

SÉRIE A N° 1486

N° D'ORDRE :

3212

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Nelicia MAYER-REICH

1^{re} THÈSE — PROPRIÉTÉS OXYDO-RÉDUCTRICES DES GLUCIDES ÉVOLUÉS A L'ABRI DE L'OXYGÈNE.

2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1933 devant la Commission d'examen

MM. G. URBAIN *Président.*

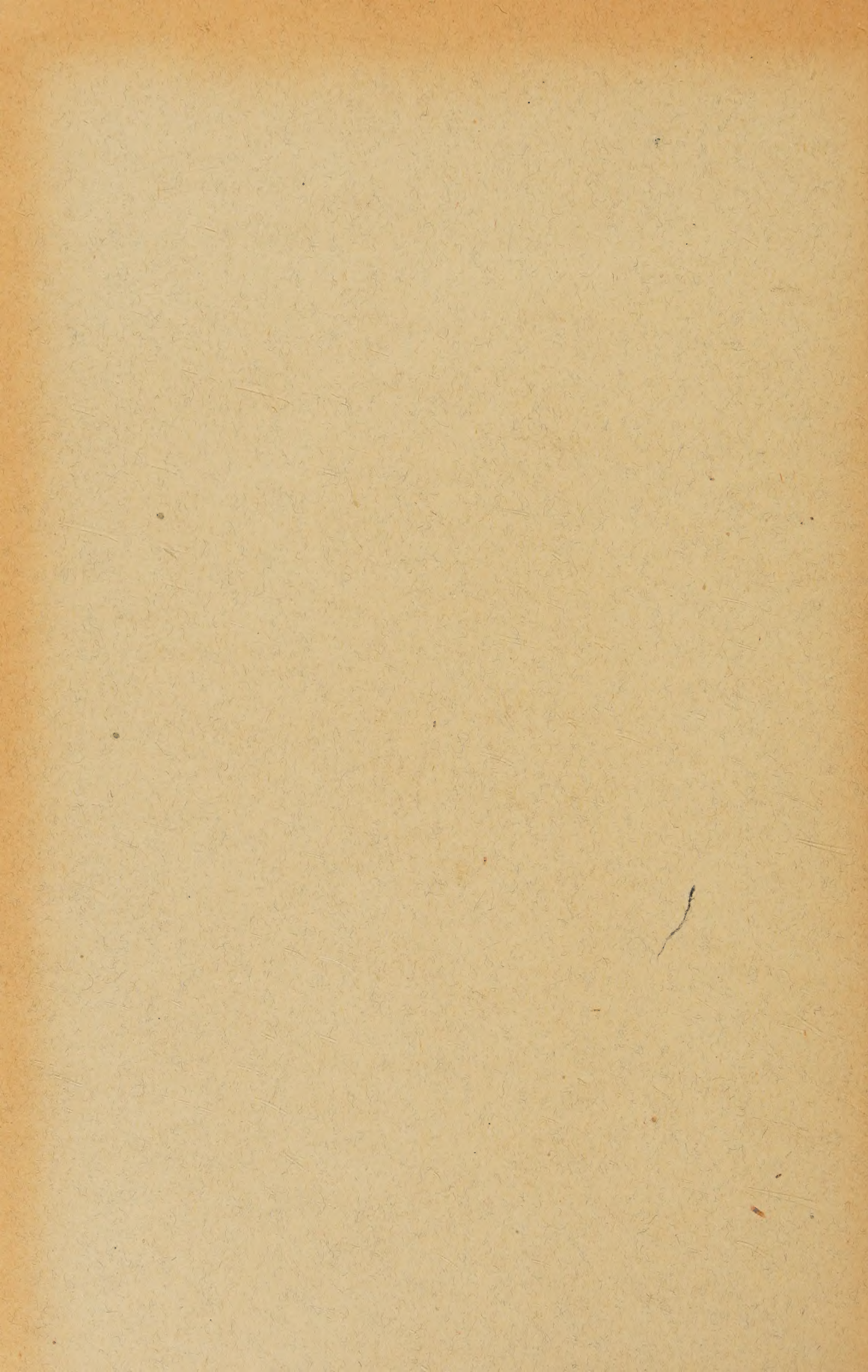
J. PERRIN

M^{me} RAMART-LUCAS } *Examineurs.*

PARIS (V^e)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49



SÉRIE A N° 1448

N° D'ORDRE :

3217

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Nelicia MAYER-REICH

1^{re} THÈSE — PROPRIÉTÉS OXYDO-RÉDUCTRICES DES GLUCIDES ÉVOLUÉS A L'ABRI DE L'OXYGÈNE.

2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1933 devant la Commission d'examen

MM. G. URBAIN *Président.*

J. PERRIN

M^{me} RAMART-LUCAS } *Examineurs.*

PARIS (V^e)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49

—
1933

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyen honoraire. M. MOLLIARD.

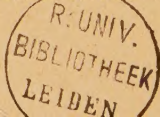
Professeurs honoraires. {
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
Émile PICARD.
Rémy PERRIER.
Léon BRILLOUIN.
A. DEREIMS.

Professeurs. {
E. GOURSAT Analyse supérieure et algèbre supérieure.
P. JANET Électrotechnique générale.
F. WALLERANT Minéralogie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
Gabriel BERTRAND Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY Zoologie (Évolution des êtres organisés).
G. URBAIN Chimie générale.
Émile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS Aviation.
Jean PERRIN Chimie physique.
H. ABRAHAM Physique.
E. CARTAN Géométrie supérieure.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
L. LAPICQUE Physiologie générale.
E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformatains.
A. COTTON Physique.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY Physique.
Charles PÉREZ Zoologie.
Léon BERTRAND Géologie structurale et géologie appliquée.
P.-A. DANGEARD Botanique.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT Anatomie et histologie comparées.
E. RABAUD Biologie expérimentale.
O. DUBOSCQ Biologie maritime.
P. PORTIER Physiologie comparée.
É. BLAISE Chimie organique.
G. JULIA Calcul différentiel et calcul intégral.
L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB Géologie.
P. PASCAL Chimie minérale.
V. AUGER Chimie appliquée.
H. BÉNARD Mécanique expérimentale des fluides.
E. ESCLANGON Astronomie.
L. BLARINGHEM Botanique.
G. MAUGUIN Minéralogie.
A. DENJOY Mathématiques générales.
A. DUFOUR Physique (P. C. N.).
A. GUILLIERMOND Botanique (P. C. N.).
H. BÉGHIN Mécanique physique et expérimentale.
DE BROGLIE Théories physiques.
G. RIBAUD Hautes températures.

E. PÉCHARD Chimie (Enseig ^t P. C. N.)	PAUTHENIER Physique (P. C. N.).
A. GUILLET Physique.	M ^{me} RAMART-LUCAS Chimie organique.
M. GUICHARD Chimie minérale.	CHRÉTIEN Optique appliquée.
A. MICHEL-LÉVY .. Pétrographie.	FREUNDLER Chimie (P. C. N.).
G. BRUHAT Physique.	P. JOB Chimie générale.
E. DARMOIS Physique.	LABROUSTE Physique du Globe.
A. DEBIERNE Radioactivité.	PRENANT Zoologie.
L. DUNOYER Optique appliquée.	VILLEY Mécanique physique et expérimentale.
M. JAVILLIER Chimie biologique.	BOHN Zoologie (P. C. N.).
L. JOLEAUD Paléontologie.	COMBES Sciences naturelles (P. C. N.).
H. MOUTON Chimie physique.	GARNIER Mécanique rationnelle.
F. PICARD Zoologie (Évolution des êtres organisés).	PÉRÉS Mécanique des fluides.
ROBERT-LÉVY Zoologie.	HACKSPILL Chimie (P. C. N.).
M. FRÉCHET Calcul des Probabilités et Physique mathématique.	LAUGIER Physiologie générale.
FOCH Mécanique expérimentale des fluides.	TOUSSAINT Technique Aéronautique
	M. CURIE Physique (P. C. N.).

Secrétaire A. PACAUD.

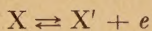
Secrétaire honoraire D. TOMBECK.



PROPRIÉTÉS OXYDORÉDUCTRICES DES GLUCIDES ÉVOLUÉS A L'ABRI DE L'OXYGÈNE

INTRODUCTION

L'idée que des équilibres électrochimiques jouent un rôle dans la physiologie cellulaire est récente. Selon WURMSER, c'est grâce à l'existence de tels équilibres que l'on peut comprendre la permanence des réactions de synthèse dans les cellules. Ces synthèses, certaines d'entre elles au moins, sont produites par des oxydoréductions, mais non pas des oxydoréductions quelconques. On sait depuis WIELAND que les réactions du métabolisme mettent en jeu principalement des transports d'hydrogène, et que les actions catalytiques des tissus ont précisément pour effet de mobiliser cet hydrogène. Toute réaction de ce genre est nécessairement une oxydoréduction, oxydation de la molécule ou du groupement moléculaire qui donne son hydrogène, réduction de la molécule ou du groupement qui l'accepte. Mais il faut, parmi toutes ces oxydoréductions, considérer à part celles qui se font entre les corps que WURMSER a désigné sous le nom de corps électroactifs, c'est-à-dire qui sont susceptibles d'échanger des charges électriques avec une électrode chimiquement inerte. L'électroactivité se présente de façon typique chez les métaux ionisables et chez les ions de métaux polyvalents. On l'observe aussi chez de nombreux corps organiques tels que les quinones étudiées à ce point de vue pour la première fois par HABER et RUSS (1904) puis par BILLMANN (1924) et d'autres auteurs, et enfin chez tous les colorants connus sous le nom d'indicateurs de potentiel d'oxydoréduction, colorants dont MANSFIELD CLARK et ses collaborateurs ont, les premiers, poursuivi l'étude systématique. Tous ces corps ont la propriété de donner naissance à des équilibres du type :



où X représente une forme réduite du corps, X' sa forme oxydée et e un électron. On peut définir thermodynamiquement l'activité électronique $[e]$ d'un système ainsi formé par la relation :

$$[e] = K \frac{[X]}{[X']}$$

où les termes entre crochets représentent les activités respectives des constituants. Quand plusieurs systèmes de ce genre sont en présence, ils s'oxydent

ou se réduisent mutuellement jusqu'à ce que leurs activités électroniques soient égales. Si de tels systèmes existent parmi les corps du métabolisme, on conçoit que l'activité électronique du milieu cellulaire règlera leurs réactions mutuelles.

Les premiers corps électroactifs de ce type qui aient été connus sont ceux dont le groupement sulfhydrilé est susceptible de s'oxyder en faisant passer le corps sous la forme de disulfure, et parmi eux le plus important est le glutathion, découvert et étudié par HOPKINS (1921).

Un autre groupe de corps électroactifs est constitué par certains dérivés des glucides. WURMSER et mon regretté camarade Jean GÉLOSO (1929) ont montré que l'on pouvait titrer électrométriquement le système oxydoréducteur qui se forme spontanément dans les solutions de glucose et de fructose quand on les laisse évoluer à l'abri de l'oxygène.

L'objet de ce travail a été tout d'abord d'étendre leurs résultats à d'autres glucides. J'ai ensuite cherché à étudier plus complètement les propriétés de ces systèmes oxydoréducteurs.

Ces recherches ont été commencées dans le laboratoire de Biophysique de l'École des Hautes Études, au Collège de France, et poursuivies à l'Institut de Biologie Physico-Chimique.

Je suis heureuse de pouvoir exprimer ici ma profonde reconnaissance à M. René WURMSER qui a bien voulu me suggérer le sujet de ce travail et suivre son exécution de très près. Depuis plusieurs années que je travaille dans son laboratoire où il a su créer une atmosphère amicale, j'ai pu profiter de son enseignement bienveillant, de son encouragement constant, et de ses conseils précieux.

Qu'il me soit permis d'exprimer également ma reconnaissance à MM. André MAYER, professeur au Collège de France, Jean PERRIN, Membre de l'Institut Georges URBAIN, Membre de l'Institut, Pierre GIRARD, Administrateur de l'Institut de Biologie, pour l'intérêt qu'ils n'ont cessé de me témoigner.

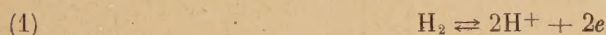
CHAPITRE PREMIER

LE POTENTIEL LIMITE DES SOLUTIONS DE GLUCIDES

POTENTIEL LIMITE DES SOLUTIONS DE GLUCOSE ET DE FRUCTOSE

Comme il a été indiqué dans l'Introduction, la première partie de ce travail a consisté à étendre à tous les glucides réducteurs l'étude des propriétés oxydoréductrices qui avait été limitée aux solutions de glucose et de fructose.

Lorsque l'hydrogène moléculaire est en présence d'un catalyseur convenable, tel que le platine platiné, ou lorsque les atomes d'hydrogène appartiennent à un corps électroactif, l'équilibre



est réalisé. Par convention, si l'activité de l'hydrogène $[\text{H}_2]$ et l'activité des ions hydrogène $[\text{H}^+]$ sont toutes deux égales à l'unité, on dit que l'activité électronique

$$(2) \quad [e] = \sqrt{K \frac{[\text{H}_2]}{[\text{H}^+]^2}}$$

est elle-même égale à l'unité, ce qui revient à poser arbitrairement que la constante d'équilibre K de la réaction (1) est aussi égale à 1. D'autre part, la différence de potentiel entre deux systèmes dont l'un est à l'activité électronique $[e]$, et l'autre à l'activité électronique $[e']$ est, d'après la définition thermodynamique de l'activité

$$(3) \quad \Delta E = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln[e'] - \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln[e]$$

où R est la constante des gaz parfaits, T la température absolue, et $\mathcal{F}$ le Faraday.

Considérons la différence de potentiel entre une électrode inerte plongée dans un système d'activité électronique e et une autre électrode constituée par du platine platiné saturé d'hydrogène à 1 atmosphère et plongeant dans une solution dont l'activité en ions H^+ est 1 ; cette deuxième électrode, que l'on appelle électrode normale d'hydrogène, correspond, d'après la convention indiquée, à une activité électronique 1 ; on peut donc écrire d'après (3) que le potentiel de la première électrode par rapport à l'électrode normale est

$$(4) \quad E_{\text{H}} = - \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln[e].$$

Dans la pratique, on substitue à l'électrode normale d'hydrogène des électrodes de référence telles que l'électrode constituée par du mercure, du calomel et une solution saturée en chlorure de potassium et dont on a déterminé une fois pour toutes le potentiel par rapport à l'électrode normale d'hydrogène.

WURMSER et GELOSO (1928) ont établi que le potentiel d'une électrode inerte (platine, or, mercure) plongée dans une solution de glucose ou de fructose maintenue à l'abri de l'oxygène, s'abaisse de plus en plus jusqu'à ce qu'une certaine valeur limite soit atteinte. Le temps d'évolution varie avec l'alcalinité et la température, mais, pourvu que le pH final soit compris entre 7 et 11, le potentiel limite a pour expression, en volt :

$$(5) \quad E_H = -0,00020 T pH - 0,00088 T + 0,50 \pm 0,02.$$

Cette relation prend une forme très simple si l'on met en évidence l'activité de l'hydrogène. En substituant la valeur de l'activité électronique d'après (2) dans la relation (4), on obtient en effet l'équation de Nernst :

$$E = + \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln[H^+] - \frac{RT}{2\mathcal{F}} \ln[H_2]$$

soit en posant :

$$(6) \quad \begin{aligned} pH &= \log \frac{1}{[H^+]}, & r_{H_2} &= \log \left[\frac{1}{H_2} \right] \\ E_H &= - \frac{1}{0,4343} \frac{RT}{\mathcal{F}} pH + \frac{1}{0,4343} \frac{RT}{2\mathcal{F}} r_{H_2}. \end{aligned}$$

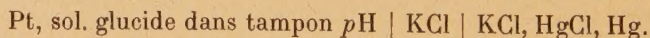
Finalement en combinant (6) et (5) on obtient :

$$(7) \quad r_{H_2} = \frac{5000}{T} - 8,8 \pm 0,5$$

relation qui permet de calculer à n'importe quelle température entre 10° et 90°, et à n'importe quel pH entre 7 et 11, le potentiel-limite d'une solution de fructose ou de glucose ; elle montre qu'une électrode inerte plongée dans ces solutions se comporte quand le potentiel-limite est obtenu, comme une électrode d'hydrogène dont l'activité $[H_2]$ serait constante à une température donnée.

POTENTIEL-LIMITE DES AUTRES GLUCIDES RÉDUCTEURS

Technique. Les déterminations consistent à mesurer le potentiel que prend une électrode inerte plongée dans une solution de glucide, maintenue à un certain pH . Ce potentiel est mesuré par rapport à une électrode de référence qui est une électrode de calomel KCl saturé, ou non, suivant les cas. On mesure donc la force électromotrice d'une chaîne constituée de la manière suivante :



Les mesures de force électromotrice ont été effectuées par la méthode d'opposition de POGGENDORF, au moyen d'un fil de platine iridié d'une résistance voisine de 10 ohms et d'un électromètre capillaire de LIPPMANN-OSTWALD. La précision des mesures est de $\pm 0,001$ volt.

Les glucides employés étaient des produits purs du commerce recristallisés plusieurs fois de leurs solutions alcooliques. Les mêmes résultats ont été obtenus, d'ailleurs, avec des glucides non recristallisés.

Les tampons étaient des solutions de phosphates M/10 ou de borates KCl M/10 auxquelles on ajoutait de la soude M/10 en quantité adéquate.

Pour obtenir des potentiels bien définis et reproductibles il est évident que les électrodes doivent être mises à l'abri de l'oxygène.

Les solutions ont été introduites dans des fioles d'ERLENMEYER à col étroit, fermées par des bouchons portant deux électrodes et un pont liquide muni d'un robinet. Ce pont communiquait par l'intermédiaire d'un vase rempli de KCl (saturé ou non suivant les cas) avec une électrode de calomel saturée à 40° et M/10 à 75°.

Les volumes des fioles choisies étaient de 125 centimètres cubes. Ces dimensions sont les plus favorables pour rendre négligeable la diffusion de l'oxygène par les orifices. Les vases étaient complètement remplis.

Quand on opère avec de petits récipients de forme cylindrique, c'est-à-dire avec une petite quantité de liquide et une grande surface en contact avec le bouchon, permettant l'accès de l'oxygène jusqu'à l'électrode, les courbes sont très irrégulières.

Les électrodes employées étaient des fils de platine de 2/10 millimètre soudés dans des tubes de cristal, le contact avec le dispositif de mesure étant assuré par une petite colonne de mercure. Le fil de platine était passé de temps en temps dans une flamme réductrice d'alcool méthylique.

La constance de la température devait être plus rigoureuse à 40° à cause de l'évolution lente des glucides et par conséquent des troubles que des rentrées d'air, dues aux variations de température, pouvaient causer dans des solutions mal tamponnées en substances oxydoréductrices ; le thermostat était constitué par une grande masse d'eau chauffée électriquement, dont la température était constante à $\pm 0^{\circ},1$.

A 75°, la vitesse des échanges entre l'électrode et les corps actifs contenus dans les solutions de glucides étant devenue suffisante pour rendre négligeables les petites rentrées d'oxygène, un thermostat à air, constant à 1°, s'est montré suffisant.

Les glucides étudiés étaient les suivants : hydrates de carbone en C_{12} (Lactose), C_6 (Galactose, Mannose), C_5 (Xylose et Arabinose) et C_3 (Dioxyacétone).

Résultats expérimentaux. — 1. Dans tous les cas étudiés, le platine prend un potentiel négatif de plus en plus grand par rapport à la solution de glucide. La figure 1 et le tableau I représentent l'évolution du potentiel en fonction du temps, dans le cas du xylose à 40° et à pH 10, 12.

Dans d'autres cas les valeurs du potentiel passent par un maximum, auquel

ces valeurs se maintiennent un certain temps qui est d'autant plus long que la température est plus basse et que l'activité en ions hydrogène est plus petite.

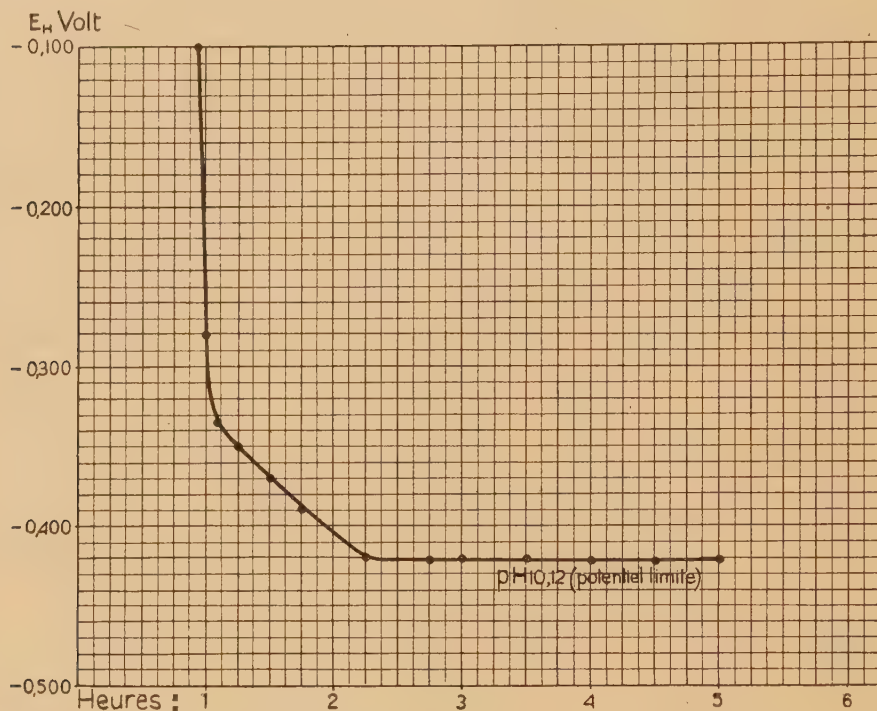


Fig. 1. — X_ylose M/150 en solution de phosphates M/10. Potentiel-limite à 40°.

TABLEAU I

Xylose M/150 en solution phosphates M/10 à 40°

Temps	E_H volt	Temps	E_H volt
0	— 0,100	1 h. 15	— 0,420
5 minutes	— 0,280	1 h. 45	— 0,422
10 »	— 0,336	2 h.	— 0,420
15 »	— 0,350	2 h. 30	— 0,420
30 »	— 0,370	3 h.	— 0,422
45 »	— 0,390	4 h.	— 0,420 pH final = 10,12

Ce ^{maximum} ~~minimum~~ correspond à la valeur limite, et la remontée est due à l'acidification de la solution pendant l'évolution du glucide.

La figure 2 et le tableau II mettent en évidence le passage de la courbe par un maximum, correspondant au potentiel-limite, et la remontée due à l'acidification de la solution dans le cas de l'arabinose à 75° et à pH 10,94.

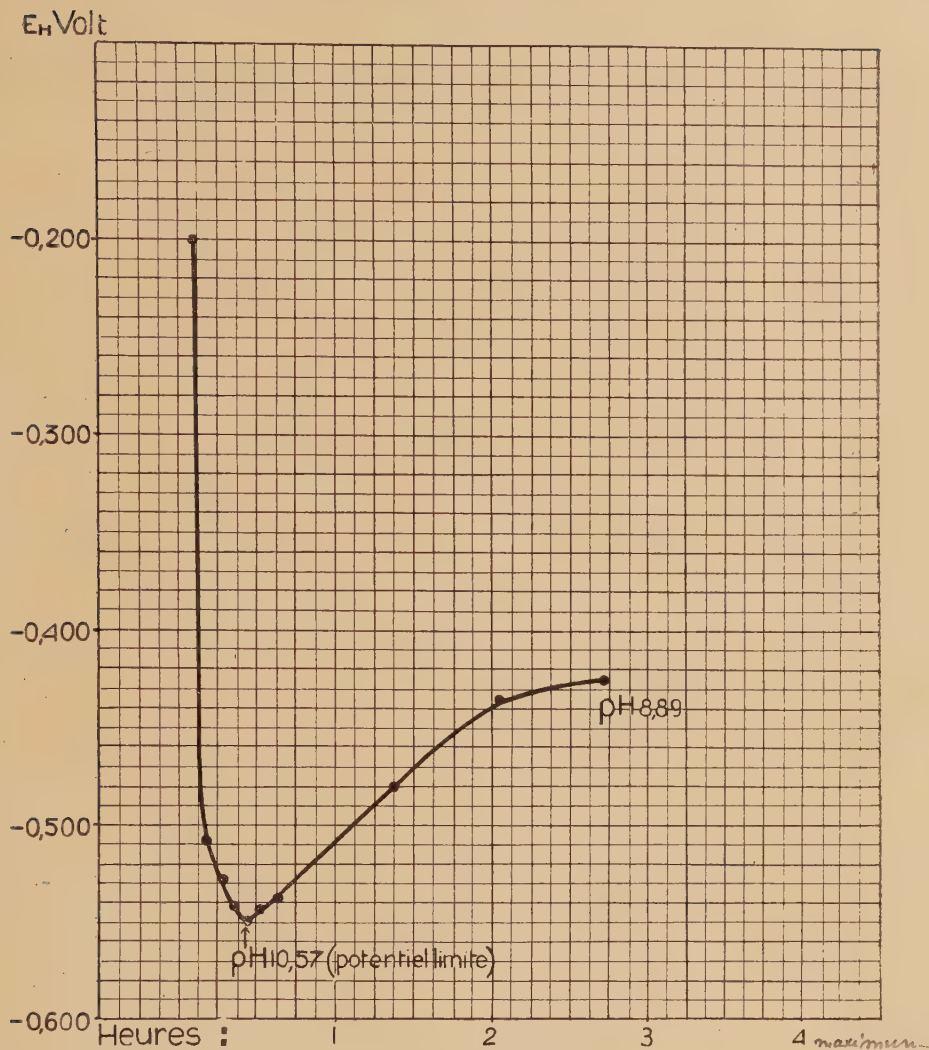


Fig. 2. — Arabinose M/150 en solution de phosphates M/10. Passage de la courbe par un minimum et remontée due à l'acidification.

TABEAU II

Arabinose M/150 en solution phosphates M/10 à 75°

Temps	E_H (volt)	Temps	E_H (volt)
0	— 0,200 pH 10,94	31 minutes	— 0,543
10 minutes	— 0,508	37 »	— 0,538
17 »	— 0,528	1 h. 22	— 0,480
20 »	— 0,542	2 h. 2	— 0,435
25 »	— 0,550 pH 10,57	2 h. 42	— 0,426 pH 8,89

Les vitesses d'établissement du potentiel-limite varient suivant la température, l'activité en ions hydrogène et la nature du glucide. Le potentiel-limite qui s'établit en dix heures à 75° pour un certain glucide, nécessite une évolution de deux mois à 40°.

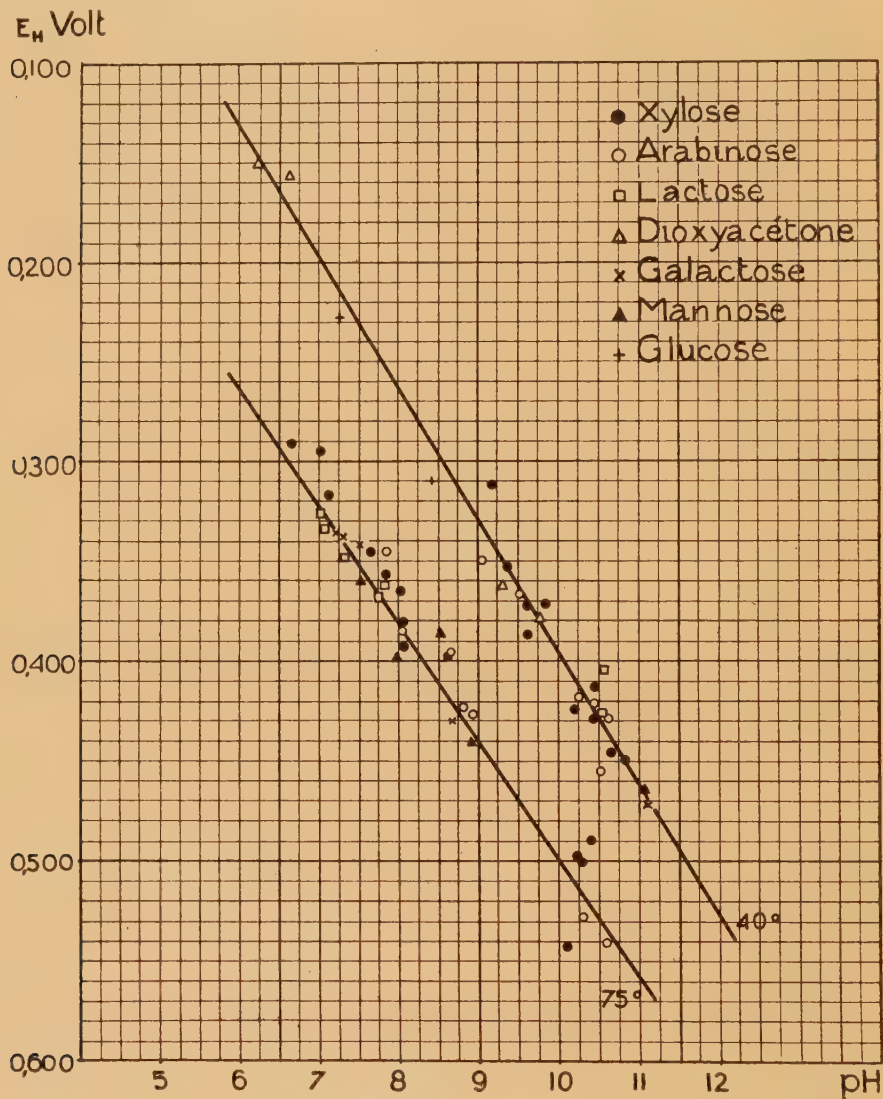


Fig. 3. — Potentiel-limite des glucides M/15 en solution de phosphates M/10.

La variation du pH vers l'alcalinité a le même effet. A 40°, à pH 11, le potentiel-limite d'un glucide s'établit en une journée alors qu'à pH 7 il s'établira en deux mois.

En outre, cette vitesse varie comme nous venons de le dire suivant la nature

du glucide. C'est ainsi qu'à pH 7,5 la dioxyacétone évolue en une demi-heure à 40°, tandis que le glucose évolue en deux mois au même pH et à la même température.

2. Le potentiel-limite varie pour les différents glucides en partant de solutions de même pH dans un même tampon.

Cette variation n'est qu'apparente, car, en évoluant, les solutions de glucides s'acidifient de manière différente, de sorte que le pH final est différent du pH initial, et différent pour les différents glucides. Si on considère la valeur du potentiel et le pH final, à une température donnée, le potentiel-limite est le même

TABLEAU III

Valeurs du potentiel-limite à 40° en solution de phosphates M/10

E _H (volt)		E _H moyen	pH	rH ₂
Lactose M/15	a) — 0,428	— 0,426	10,28	6,80
	b) — 0,424			
	a) — 0,401	— 0,403	10,30	7,58
	b) — 0,405			
Mannose M/15	a) — 0,463	— 0,464	11,02	7,06
	b) — 0,465			
Galactose M/15	a) — 0,472	— 0,472	11,10	6,96
	b) — 0,472			
Xylose M/15	a) — 0,312	— 0,312	9,18	8,25
	b) — 0,312			
	a) — 0,374	— 0,374	9,35	6,61
	b) — 0,374			
	a) — 0,387	— 0,387	9,64	6,77
	b) — 0,387			
	a) — 0,372	— 0,372	9,64	7,25
	b) — 0,372			
	a) — 0,371	— 0,371	9,82	7,64
	b) — 0,371			
	a) — 0,419	— 0,414	10,44	7,51
	b) — 0,410			
	a) — 0,429	— 0,429	10,44	7,03
	b) — 0,429			
Arabinose M/15	a) — 0,350	— 0,350	9,04	6,77
	b) — 0,350			
	a) — 0,355	— 0,367	9,50	7,16
	b) — 0,379			
	a) — 0,417	— 0,418	10,22	6,93
	b) — 0,420			
	a) — 0,427	— 0,421	10,42	7,25
	b) — 0,415			
Dioxyacétone M/15	a) — 0,150	— 0,150	6,20	7,54
	b) — 0,150			
	a) — 0,154	— 0,156	6,63	8,22
	b) — 0,158			
	a) — 0,360	— 0,360	9,30	6,96
	b) — 0,360			
	a) — 0,378	— 0,378	9,75	7,29
	b) — 0,378			

TABLEAU IV

Valeurs du potentiel-limite à 75° en solution de phosphates M/10

E_H (volt)		E_H moyen	pH	rH_2
Lactose M/15	a) — 0,333	— 0,332	7,05	4,46
	b) — 0,331			
	a) — 0,326	— 0,326	7,05	4,63
	b) — 0,326			
	a) — 0,334	— 0,332	7,05	4,46
	b) — 0,330			
	a) — 0,348	— 0,348	7,34	4,59
	b) — 0,348			
	a) — 0,363	— 0,366	7,76	4,89
	b) — 0,369			
	a) — 0,360	— 0,361	7,82	5,16
	b) — 0,363			
Mannose M/15	a) — 0,360	— 0,360	7,48	4,52
	b) — 0,360			
	a) — 0,389	— 0,398	7,95	4,34
	b) — 0,403			
	a) — 0,387	— 0,387	8,5	5,76
	b) — 0,387			
	a) — 0,443	— 0,443	8,93	5,00
	b) — 0,443			
Galactose M/15	a) — 0,336	— 0,336	7,20	4,66
	b) — 0,336			
	a) — 0,338	— 0,337	7,24	4,69
	b) — 0,336			
	a) — 0,342	— 0,342	7,50	5,08
	b) — 0,342			
	a) — 0,430	— 0,430	8,66	4,84
	b) — 0,430			
Xylose M/15	a) — 0,292	— 0,292	6,64	4,81
	b) — 0,292			
	a) — 0,295	— 0,295	7,02	5,49
	b) — 0,295			
	a) — 0,318	— 0,318	7,09	4,95
	b) — 0,318			
	a) — 0,394	— 0,393	8,04	4,68
	b) — 0,392			
	a) — 0,498	— 0,498	10,21	5,98
	b) — 0,498			
	a) — 0,503	— 0,501	10,24	5,94
	b) — 0,500			
	a) — 0,490	— 0,490	10,33	6,45
	b) — 0,490			
Arabinose M/15	a) — 0,378	— 0,384	8,06	4,98
	b) — 0,391			
	a) — 0,396	— 0,396	8,62	5,70
	b) — 0,396			
	a) — 0,433	— 0,433	8,80	5,04
	b) — 0,433			
	a) — 0,524	— 0,528	10,28	5,40
	b) — 0,532			

quelle que soit la nature du glucide, dans la limite d'erreur des expériences et de reproductibilité du phénomène. Le potentiel varie seulement en fonction du pH . Les tableaux III et IV et la figure 3 montrent les variations du potentiel limite en fonction du pH . Ces valeurs sont les mêmes que celles observées pour le glucose et le fructose en particulier :

1° Le tableau III et la figure 3 montrent qu'en solution de phosphates à 40° le potentiel varie linéairement en fonction du pH ce qui est conforme à l'équation (5) qui devient :

$$E_H = -0,062 pH + 0,22 \pm 0,02 \text{ volt}$$

à 40°

La valeur de rH_2 calculée d'après l'équation (7) :

$$rH_2 = \log \left[\frac{1}{H_2} \right] = \frac{5000}{T} - 8,8 \pm 0,5$$

est en effet :

$$rH_2 = 7,2 \pm 0,5 \text{ à } 40^\circ$$

tandis que celle obtenue en prenant la moyenne des valeurs indiquées dans le tableau III est :

$$rH_2 = 7,05 \pm 0,35.$$

Les valeurs calculées et trouvées expérimentalement sont sensiblement les mêmes, ce qui confirme la généralité de la loi donnée pour le glucose et le fructose

TABLEAU V

Valeurs du potentiel-limite à 40° en solution de phosphates M/10

E_H (volt)			E_H moyen	pH	rH_2
Xylose	M/6	a) — 0,424	— 0,424	10,18	6,67
		b) — 0,424			
	M/15	a) — 0,372	— 0,372	9,64	6,77
		b) — 0,372			
		a) — 0,429	— 0,429	10,44	7,03
		b) — 0,429			
	M/30	a) — 0,444	— 0,446	10,62	6,83
		b) — 0,448			
	M/150	a) — 0,450	— 0,450	10,8	7,06
		b) — 0,450			
Arabinose	M/15	a) — 0,350	— 0,350	9,04	6,77
		b) — 0,350			
		a) — 0,417	— 0,417	10,22	6,93
		b) — 0,417			
	M/75	a) — 0,455	— 0,455	10,52	6,35
		b) — 0,455			
	M/150	a) — 0,426	— 0,428	10,65	7,48
		b) — 0,430			

La droite représentant les variations du potentiel-limite est parallèle à celle représentant les variations de potentiel de l'électrode d'hydrogène

$$E_H = -0,062 \text{ pH à } 40^\circ$$

2° De même à 75° en solution de phosphates M/10, le potentiel limite varie comme le montrent le tableau IV et le graphique 3 suivant la relation linéaire conforme à l'équation (5) qui devient :

$$E_H = -0,069 \text{ pH} + 0,21 \pm 0,02.$$

à 75°

La valeur de rH_2 calculée est :

$$rH_2 = 5,5 \pm 0,5 \text{ à } 75^\circ$$

tandis que celle correspondant au tableau IV est :

$$rH_2 = 5,06 \pm 0,4.$$

TABLEAU VI

Valeurs du potentiel-limite à 75° , en solution de phosphates M/10

E_H (volt)			E_H moyen	pH	rH_2
Xylose	M/15	a) — 0,318	— 0,318	7,09	4,95
		b) — 0,318			
		a) — 0,394			
		b) — 0,392			
		a) — 0,503			
	M/75	b) — 0,500	— 0,501	10,24	5,94
		a) — 0,345			
		b) — 0,345			
		a) — 0,356			
		b) — 0,358			
Arabinose	M/150	a) — 0,365	— 0,365	8,03	5,48
		b) — 0,365			
		a) — 0,381			
		b) — 0,385			
		a) — 0,530			
	M/75	b) — 0,557	— 0,543	10,8	5,85
		a) — 0,396			
		b) — 0,396			
		a) — 0,524			
		b) — 0,532			
	M/150	a) — 0,346	— 0,345	7,82	5,62
		b) — 0,344			
		a) — 0,388			
		b) — 0,405			
	M/75	a) — 0,427	— 0,427	8,89	5,39
		b) — 0,427			
		a) — 0,541			
		b) — 0,541			
		a) — 0,541		10,57	5,44
		b) — 0,541			

Les valeurs calculées et trouvées expérimentalement sont assez voisines. La loi de WURMSER et GÉLOSO est donc générale et s'applique à tous les glucides à toute température entre 20° et 75°.

La variation de la concentration du glucide n'influe pas sur le potentiel-limite dans l'intervalle de concentration étudié, comme le montrent les tableaux V et VI.

CHAPITRE II

SIGNIFICATION DU POTENTIEL CARACTÉRISTIQUE DÉTERMINÉ PAR LE TITRAGE

La réversibilité du système oxydoréducteur qui se forme au cours de l'évolution des solutions de glucides a été démontrée de plusieurs manières. Déjà AUBEL, GENEVOIS et WURMSER (1927) avaient établi que les seuls indicateurs réduits étaient ceux dont le potentiel normal est plus élevé que le potentiel limite atteint par les solutions en l'absence de tout colorant. WURMSER et GÉLOSO (1928) ont montré : 1° que ce potentiel, indépendamment de la nature de l'électrode, n'est pas modifié par l'addition de substances qui se mettent en équilibre rapide avec l'électrode ; 2° que les indicateurs dont le potentiel normal est plus négatif que le potentiel limite des solutions de glucides sont réoxydés quand ils sont introduits dans ces solutions sous leur forme réduite. Finalement ils ont titré électrométriquement le système oxydoréducteur, en mesurant le potentiel d'une solution dans laquelle ils versaient progressivement un oxydant, puis un réducteur. Bien que l'équilibre fut long à s'établir, ils obtenaient ainsi deux courbes ayant une forme analogue à celle des courbes que l'on obtient en titrant électrométriquement un sel cuivrique, par exemple, avec un sel chromeux ; le palier caractéristique de la courbe obtenue par oxydation coïncidait parfaitement dans l'échelle des potentiels avec le palier de la courbe obtenue par titrage en retour avec un réducteur.

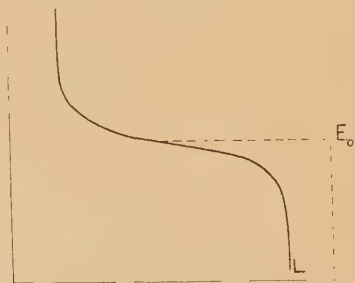


Fig. 4.

Il était ainsi démontré qu'il se forme dans les solutions de glucose un système électroactif et WURMSER et GÉLOSO furent conduits à admettre que le potentiel limite correspond à l'état de réduction pratiquement complet de ce système réversible. Si l'on considère la courbe de titrage de ce système, E_0 figure son potentiel caractéristique et L son potentiel limite. (figure 4)

Il nous a semblé pouvoir apporter une confirmation de ce point de vue.

En effet, l'obtention de courbes présentant un palier bien défini, a été la seule manière de mettre en évidence l'existence d'un système oxydoréducteur, bien qu'en toute rigueur, la démonstration n'en soit possible que si l'on connaît les formes oxydée et réduite du système. On obtiendrait alors une courbe en S, caractéristique de l'équilibre, en effectuant des mélanges variables de ces deux formes, et en portant le potentiel du mélange en fonction de sa composition.

Mais, dans le cas des glucides, cette méthode est pour le moment inapplicable, car on ne sait obtenir isolément ni la forme oxydée ni la forme réduite du système.

Comme d'autre part, le titrage en retour présente de grandes difficultés, ainsi que nous le verrons plus loin, il nous a paru important de montrer que le palier des courbes de titrage au moyen d'un oxydant est indépendant de la nature de cet agent. La signification thermodynamique des paliers ainsi obtenus doit ainsi apparaître plus nettement.

Dans un milieu qui contient divers systèmes oxydoréducteurs, le potentiel est déterminé à chaque moment par le système dont l'état de réduction approche le plus de celui qui correspond à son potentiel normal. C'est à ce moment en effet que les échanges du système avec l'électrode passent par un maximum (voir MICHAELIS). C'est pour cette raison qu'une électrode plongée dans un mélange à parties égales de bleu de méthylène et de son leucodérivé indique le potentiel normal de ce système et non celui du sel de titane qui a servi par exemple à la réduction. Il en est encore de même de part et d'autre du potentiel normal dans des limites assez larges pour permettre le titrage électrométrique. Mais cela n'est vrai que si le système titré est suffisamment électroactif, c'est-à-dire tel que ses échanges avec l'électrode soient suffisamment intenses ; sinon, même au voisinage du potentiel normal de ce système, les échanges avec l'électrode sont encore négligeables vis-à-vis de ceux de l'agent de titrage bien que celui-ci soit dans un état de réduction très éloigné de celui qui correspond à son propre potentiel normal.

Pour s'assurer que les paliers des courbes de titrages caractérisent bien le corps titré et non l'agent oxydant, j'ai effectué le titrage par deux oxydants, dont les potentiels normaux sont à la fois : 1° suffisamment éloignés l'un de l'autre ; 2° suffisamment éloignés du potentiel du système à titrer.

En suivant le raisonnement fait plus haut, la superposition des courbes de titrage par ces deux oxydants, donnerait la certitude que le potentiel mesuré possède bien une signification thermodynamique, ou en d'autres termes, que ces mesures correspondent bien aux changements du rapport des formes oxydée et réduite du système en équilibre d'oxydoréduction.

Technique. — 1. Étant donné la lenteur des réactions à température ordinaire les titrages ont été effectués à 70°.

Les agents oxydants étaient du ferricyanure de potassium ou du bleu de méthylène.

Des titrages faits au préalable sur le bleu de méthylène ont précisé le niveau de son potentiel normal à 70°, et ont montré que ce niveau était suffisamment

éloigné de celui du système à titrer pour permettre son emploi sans confusion.

Afin de déterminer ce potentiel on a effectué le titrage électrométrique d'une solution de bleu de méthylène, diluée dans une solution de tampon de phosphates, qu'on réduisait à l'aide du trichlorure de titane. Le trichlorure était dissous dans 100 cc. acide citrique M/5, la solution amenée au pH voulu avec de la soude, et diluée ensuite dans la solution de phosphates qui servait à la dilution du bleu de méthylène. La solution tampon avait été soumise à un passage d'azote très pur, pour enlever les traces d'oxygène.

Les mesures de potentiel ont été faites en se servant comme électrode de référence de l'électrode de calomel, KCl N/10. Les potentiels ont été calculés par rapport à l'électrode normale d'hydrogène.

Le colorant se mettant rapidement en équilibre avec l'électrode, les lectures ont été faites rapidement afin d'éviter des erreurs dues à des réactions secondaires qui auraient pu se produire à cette température relativement élevée.

Les solutions tampon employées étaient constituées par des mélanges de phosphates. Leur concentration était soit 1 M, soit 1/10 M, afin de nous rendre compte de l'influence de la concentration du tampon sur le potentiel normal.

Les mesures de pH ont été faites à température ordinaire à l'aide de l'électrode d'hydrogène et corrigées pour 70°.

Le tableau suivant indique les valeurs du potentiel normal obtenu :

E'o	pH	E'o	pH
Phosph. M/10 — 0,059	7,22	Phosph. M — 0,064	7,03
— 0,051	7,22	— 0,062	7,02
— 0,036	6,36	— 0,028	6,03
— 0,032	6,30	— 0,032	5,98
		— 0,031	5,93

La valeur moyenne de $E'o$ à pH 7 à 70° est en tampon de phosphate M/10 — 0,050 et en tampon phosphate M — 0,057.

2. Les solutions actives ont été préparées en laissant évoluer dans le vide (en tube scellé) pendant 30 minutes à 100°, une solution de glucose à 2 % dans de la soude N/10.

La concentration en glucide ne devait pas dépasser cette valeur à 70° afin d'éviter une évolution pendant le titrage, due à l'excès de glucide. Cette précaution n'est nécessaire qu'à haute température. A température ordinaire, l'évolution étant lente, la concentration en glucide peut varier jusqu'à 10 %.

La méthode employée a été celle généralement adoptée : un flacon en verre d'Iéna de 125 à 150 centimètres cubes, à large goulot, était fermé par un bouchon à 5 orifices, par lesquels passent l'électrode en platine, un pont à robinet, un tube pour l'entrée de l'azote, un autre pour la sortie. Le cinquième orifice portait un petit entonnoir (3-4 centimètres cubes) à robinet, qui sert à l'introduction de l'oxydant.

L'azote employé était de l'azote très pur du commerce (0,3 % oxygène) qu'on achevait de purifier en le passant à travers une plaque poreuse dans une solution à 10 % d'hydrosulfite dans de la soude 10 %. A partir de cette colonne à hydrosulfite, les tubes conduisant à la fiole de titrage, étaient en métal (pour éviter la diffusion de l'air à travers le caoutchouc), les connexions métal-verre étant faites à l'aide du ciment de KHOTINSKY.

Les mesures ont été faites par la méthode d'opposition en employant comme électrode de référence l'électrode au calomel KCl N/10, les valeurs de cette électrode étant connues pour la température de 70°.

On commençait par introduire dans le flacon 50 centimètres cubes d'une solution tampon de phosphates M/5. On faisait passer l'azote, pendant 12-24 heures pour chasser l'oxygène contenu dans la solution.

On introduisait ensuite 2 centimètres cubes de glucose évolué, par l'entonnoir à robinet ; puis on attendait un certain temps afin que le potentiel d'équilibre s'établisse. Ce potentiel n'est pas identique au potentiel-limite, car le glucide introduit au contact de l'air est faiblement oxydé. Le potentiel prend donc une valeur plus positive que le potentiel-limite. La valeur stable était obtenue en quelques heures, et restait stable pendant un temps relativement long

TABLEAU VII

*Titrage à 70° de 2 centimètres cubes glucose 2 % évolué,
dilué dans 50 centimètres cubes solution de phosphates M/5*

Agent oxydant Fe (CN)₆ K₃ N/10

Date	E _H (volt)
1) 3-5-	— 0,132 ; — 0,207 ; — 0,203 ; — 0,207
4 »	— 0,193
5 » on ajoute 3 cc oxydant	+ 0,325 ; + 0,207 ; — 0,113 ; — 0,127 ; — 0,129
6 »	— 0,145 ; — 0,143
	— 0,143 ; pH 7,30
2) 7-7-	— 0,130 ; — 0,163 ; — 0,178
8 »	— 0,176
9 » on ajoute 1,5 cc d'oxydant	+ 0,301 ; — 0,106 ; — 0,139 ; — 0,152 ; — 0,148
10 »	+ 0,317 ; + 0,289 ; + 0,273 ; + 0,049 ; — 0,073 ; — 0,122
11 » on ajoute 1,5 cc d'oxydant	— 0,133 ; — 0,124
12 »	— 0,124
13 » on ajoute 1,5 cc d'oxydant	— 0,126
14 »	+ 0,307 ; + 0,289 ; + 0,270 ; + 0,248
15 »	— 0,035 ; — 0,047
16 »	— 0,049
17 »	— 0,067
18 »	— 0,083
19 »	— 0,087
20 » on ajoute 1,5 cc d'oxydant	— 0,085
21 »	— 0,087
22 »	+ 0,297
	+ 0,271
	+ 0,253
	+ 0,233

(2-3 jours). On introduisait alors une certaine quantité d'oxydant (0,5-1 centimètre cubes suivant les cas). Le potentiel croissait instantanément dans le sens positif et atteignait une valeur assez élevée qui est celle de l'oxydant, puis il évoluait en sens inverse pour atteindre une nouvelle valeur stable pendant 24-48 heures et plus. Une nouvelle quantité d'oxydant étant ajoutée, le phénomène se reproduisait : on avait un accroissement brusque du potentiel et une évolution en sens inverse atteignant des valeurs stables voisines des précédentes et légèrement déplacées dans le sens positif.

TABLEAU VIII

*Titrage à 70° de 2 centimètres cubes glucose 2 % évolué
dilué dans 50 centimètres cubes solution de phosphates M/5
Agent oxydant : Bleu de méthylène N/10*

Date	E _H (volt)
1) 9-5-	— 0,149 ; — 0,177 ; — 0,197 ; — 0,223 ; — 0,230
10 " on ajoute 1,32 cc oxydant	— 0,220 — 0,033 ; — 0,039 ; — 0,041
11 " "	— 0,050
12 " "	— 0,107 ; — 0,150 ; — 0,160
14 " on ajoute 2,64 cc oxydant	— 0,157 pH 7,35 — 0,007 — 0,031 ; — 0,043
15 " "	— 0,057
16 " "	— 0,067
17 " "	— 0,083
19 " "	— 0,100
20 " "	— 0,118
21 " "	— 0,142
22 " "	— 0,143
23 " "	— 0,143
24 " "	— 0,141 pH 7,28
25 " "	
2) 5-6-	— 0,123 ; — 0,143 ; — 0,152
6 " on ajoute 1,5 cc oxydant	— 0,148 — 0,032 ; — 0,052 ; — 0,071
7 " "	— 0,137
8 " "	— 0,140
9 " "	— 0,141 pH 7,32
3) 18-6-	— 0,160
19 " on ajoute 1,5 cc oxydant	— 0,160 — 0,043 — 0,081 — 0,135
20 " "	— 0,143 — 0,140
21 " "	— 0,140
22 " "	— 0,027
23 " on ajoute 1,5 cc oxydant	— 0,047 — 0,062 — 0,072 — 0,080 — 0,095 — 0,111
24 " "	— 0,126
25 " "	— 0,132
26 " "	— 0,137
27 " "	— 0,139
28 " "	
30 " "	
1-7-	
2 " "	
3 " "	
4 " "	

L'accroissement du potentiel se faisait toujours presque instantanément, correspondant toujours au potentiel de l'oxydant. L'évolution en sens inverse se faisait de plus en plus lentement, après chaque addition d'oxydant.

Le tableau VII indique les valeurs successives prises par le potentiel après chaque addition d'oxydant, celui-ci étant le ferricyanure de potassium.

Le tableau VIII donne les valeurs correspondantes, quand l'agent oxydant est le bleu de méthylène.

Les potentiels-limite atteints après chaque addition d'oxydant sont résumés dans le tableau suivant :

	E_H (volt)	pH
Bleu de Méthylène N/10		
1,32 cc	— 0,158	7,35
1,5 cc	— 0,140	7,32
3,96 cc	— 0,142	7,28
1,5 cc	— 0,140	7,35
3 cc	— 0,138	7,35
Ferricyanure de potassium N/10		
1,5 cc	— 0,150	7,36
3 cc	— 0,144	7,30
3 cc	— 0,126	7,32

Ces valeurs sont à peu près les mêmes. Les différences observées sont du même ordre pour les mêmes quantités d'oxydant, d'une part, et pour des quantités équivalentes des deux oxydants d'autre part. Elles sont voisines des variations des potentiels-limite, comme on l'a montré au premier chapitre.

Étant donné ces considérations, les paliers des courbes de titrage caractérisent un même niveau de potentiel et apportent un argument nouveau en faveur de la signification thermodynamique du potentiel mesuré dans les solutions de glucides évolués.

CHAPITRE III

INFLUENCE DE L'ACIDE BORIQUE

Il a paru possible d'apporter une autre confirmation de la signification thermodynamique du potentiel caractéristique déterminé par titrage dans les solutions de glucides évolués. WURMSER et GÉLOSO avaient observé que, dans les solutions de glucose et de fructose, contenant comme tampon un mélange de borate et de chlorure de potassium, le potentiel-limite avait une valeur négative inférieure de 30 à 40 millivolts à celle du potentiel-limite dans les solutions tamponnées par des phosphates. Si l'on interprète le potentiel-limite comme nous l'avons indiqué dans le chapitre précédent (fig. 4), le titrage électrométrique dans ces divers tampons doit aussi donner des résultats différents : le potentiel caractéristique indiqué par le palier des courbes de titrage doit varier comme le potentiel-limite.

Potentiel limite des solutions de glucides en présence de borates. — J'ai d'abord précisé, en utilisant la technique déjà décrite, les limites de pH entre lesquelles se manifeste l'action des borates. La constante de dissociation de l'acide borique est $K = 6,6.10^{-10}$ ce qui correspond à $pK = \log \frac{1}{K} = 9,206$.

Dans les solutions tamponnées avec des borates, le potentiel limite est le même que dans les solutions de phosphates de même pH , entre pH 12 et pH 9,25 ; mais à partir de pH 9 vers la région acide, il est nettement plus positif de 0,030-0,040 volt à 40°. A 75° le phénomène persiste, mais il est moins intense. Ceci apparaît dans les tableaux IX et X et sur la figure 5 où les lignes en pointillé représentent le potentiel en milieu de phosphates, et les lignes en traits pleins, le potentiel en milieu de borates.

Toutefois on remarquera que les vitesses d'établissement du potentiel-limite sont très différentes dans ces deux tampons, les borates ayant un effet nettement retardateur ; il se pourrait donc que le potentiel-limite ne soit atteint qu'en apparence. La vitesse d'établissement du potentiel est en outre diminuée en milieu acide, comme nous l'avons montré plus haut.

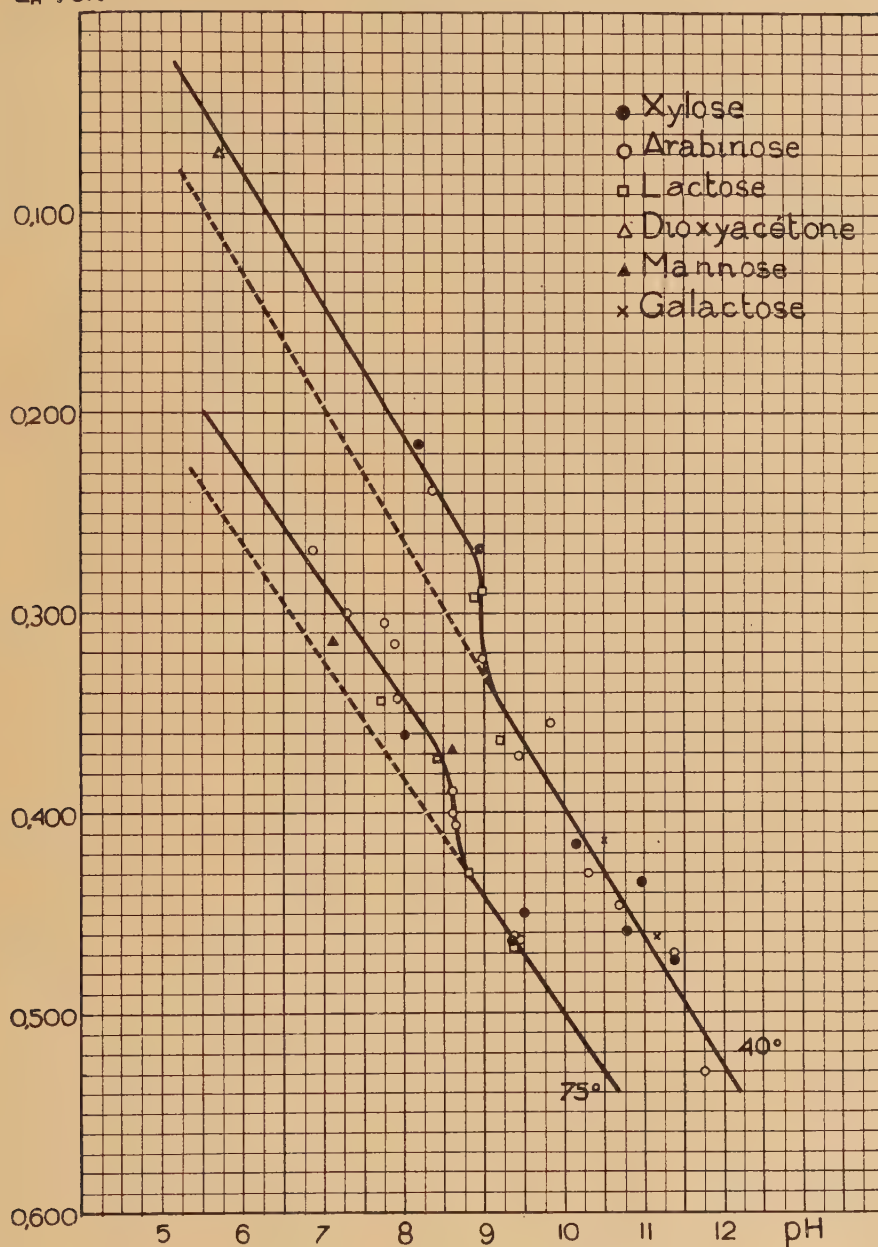
E_h Volt


Fig. 5. — Potentiel-limite des glucides M/15 en solution de borates M/10 (en traits pleins). En pointillé courbes correspondant aux glucides en solution de phosphates M/10.

TABLEAU IX

Valeurs du potentiel-limite à 40° en solution de borates M/10

E _H (volt)		E _H moyen	pH	rH ₂
Xylose M/15	a) — 0,217	— 0,216	8,17	9,03
	b) — 0,215			
	a) — 0,269	— 0,269	8,95	9,22
	b) — 0,269			
	a) — 0,417	— 0,416	10,16	6,87
	b) — 0,416			
	a) — 0,460	— 0,460	10,78	6,70
	b) — 0,460			
	a) — 0,436	— 0,435	10,94	7,83
	b) — 0,434			
	a) — 0,480	— 0,474	11,38	7,45
	b) — 0,469			
Arabimose M/15	a) — 0,238	— 0,239	8,35	8,96
	b) — 0,240			
	a) — 0,323	— 0,323	8,95	7,45
	b) — 0,323			
	a) — 0,373	— 0,371	9,44	6,90
	b) — 0,369			
	a) — 0,355	— 0,355	9,85	8,25
	b) — 0,355			
	a) — 0,428	— 0,430	10,28	7,00
	b) — 0,432			
	a) — 0,450	— 0,446	10,68	6,96
	b) — 0,443			
	a) — 0,478	— 0,472	11,38	7,51
	b) — 0,467			
	a) — 0,530	— 0,530	11,75	6,38
	b) — 0,530			
Lactose M/15	a) — 0,286	— 0,289	8,95	8,25
	b) — 0,292			
	a) — 0,292	— 0,292	8,90	8,35
	b) — 0,292			
	a) — 0,363	— 0,363	9,23	6,77
	b) — 0,363			
Galactose M/15	a) — 0,463	— 0,463	11,15	7,35
	b) — 0,463			
Mannose M/15	a) — 0,413	— 0,414	10,5	7,64
	b) — 0,415			
Dioxyacétone M/15	a) — 0,070	— 0,070	5,70	9,12
	b) — 0,070			

TABLEAU X
Valeurs du potentiel-limite à 75° en solution de borates $M/10$

E_H (volt)	E_H moyen	pH	rH_2
Lactose $M/15$			
a) — 0,342	— 0,343	7,7	5,44
b) — 0,345			
a) — 0,366	— 0,372	8,44	6,09
b) — 0,379			
a) — 0,433	— 0,431	8,8	5,10
b) — 0,430			
a) — 0,467	— 0,467	9,36	5,16
b) — 0,467			
Mannose $M/15$			
a) — 0,314	— 0,314	7,08	5,04
b) — 0,314			
a) — 0,368	— 0,368	8,54	6,31
b) — 0,368			
Arabinose $M/15$			
a) — 0,269	— 0,269	6,84	5,85
b) — 0,269			
a) — 0,304	— 0,300	7,28	5,85
b) — 0,296			
a) — 0,305	— 0,305	7,75	6,63
b) — 0,305			
a) — 0,342	— 0,343	7,88	5,79
b) — 0,344			
a) — 0,328	— 0,320	7,88	6,46
b) — 0,313			
a) — 0,393	— 0,400	8,60	5,59
b) — 0,407			
a) — 0,390	— 0,389	8,60	5,91
b) — 0,388			
a) — 0,406	— 0,406	8,65	5,79
b) — 0,406			
a) — 0,461	— 0,461	9,37	5,86
b) — 0,461			
a) — 0,446	— 0,461	9,42	5,19
b) — 0,476			
Xylose $M/15$			
a) — 0,371	— 0,371	8,05	5,33
b) — 0,371			
a) — 0,463	— 0,464	9,43	5,39
b) — 0,465			
a) — 0,447	— 0,450	9,50	5,94
b) — 0,454			

Titrage électrométrique en milieu boraté. — Des essais de titrage à la température ordinaire, à l'aide de la technique de WURMSER et GÉLOSO (1929) ont montré qu'un temps considérable aurait été nécessaire à l'établissement de l'équilibre.

Il en serait résulté la même incertitude en ce qui concerne la valeur du potentiel au moment de l'équilibre. Cette double difficulté a été écartée en effectuant les titrages à 70°. (Thermostat à eau, constant à $\pm 1^\circ$).

La technique employée était la même que celle déjà décrite. Les mélanges tampon étaient des solutions de borate de sodium $M/5$, auxquelles on ajoutait la quantité d'acide chlorhydrique nécessaire pour obtenir le pH voulu.

L'agent oxydant était du ferricyanure de potassium N/10. Le tableau XI indique les valeurs successives prises par le potentiel après chaque addition d'oxydant.

TABLEAU XI

Titration électrométrique du Glucose évolué 2 % en solution de borate M/5 à 70°

Date	E_H (volt)
4 cc Glucose évolué + 50 cc tampon. Solution oxydante : $Fe(CN)_6 K_3$ N/10.	
1) 16-6-	— 0,158 ; — 0,188
17-6-	— 0,180 pH 7,85
on ajoute 3 cc d'oxydant	+ 0,288 ; + 0,233 ; + 0,160 ; — 0,057 ; — 0,102
18 »	— 0,143 ; — 0,156 ; — 0,164
19 »	— 0,165 pH 7,75
on ajoute 3 cc d'oxydant	+ 0,293 ; + 0,265 ; + 0,226 ; + 0,216
20 »	— 0,010 ; — 0,041 ; — 0,079 ; — 0,087
21 »	— 0,096
22 »	— 0,096 pH 7,65
on ajoute 3 cc d'oxydant	+ 0,289 ; + 0,279
23 »	+ 0,259
24 »	+ 0,241
25 »	+ 0,227
26 »	+ 0,209
27 »	+ 0,195
29 »	— 0,014
30 »	— 0,026
31 »	— 0,047 ; — 0,062
1-7-	— 0,045 ; — 0,060
2 »	— 0,057 pH 7,30
2 cc. glucose évolué + 50 cc. tampon.	
2) 28-6-	— 0,133 ; — 0,153 ; — 0,173 ; — 0,173
29 »	— 0,163
on ajoute 1,5 cc d'oxydant	+ 0,289 ; — 0,106 ; — 0,142 ; — 0,139 ; — 0,145
30 »	— 0,142 pH 7,79
on ajoute 1,5 cc d'oxydant	+ 0,295 ; + 0,265 ; + 0,247
1 »	— 0,041
3 »	— 0,072
4 »	— 0,086
5 »	— 0,072 pH 7,67

Les valeurs des potentiels définitivement atteints après chaque addition d'oxydant à une même quantité de glucide évolué sont résumées dans le tableau suivant:

	E_H (volt)	pH
Borate M/5	$Fe(CN)_6 K_3$ N/10	
	1,5 cc.	— 0,165 7,75
	3 cc.	— 0,096 7,65
	4,5	— 0,058 7,30
	1,5	— 0,143 7,79
	3	— 0,078 7,67

D'autre part les valeurs des potentiels définitivement atteints en solution de phosphates quand l'agent oxydant était du ferricyanure de potassium sont résumées ci-dessous :

	E_H (volt)	pH
Phos- phates	— 0,150	7,40
M/5	— 0,126	7,32
	— 0,086	7,20
	— 0,144	7,30

Il résulte que le potentiel caractéristique du système oxydo-réducteur est plus élevé en présence de borate qu'en présence de phosphates, ce qui confirme l'interprétation qui a été donnée du potentiel-limite des solutions de glucides.

CHAPITRE IV

STABILITÉ DU SYSTÈME OXYDO-RÉDUCTEUR

Nous venons de voir que les solutions de glucides réducteurs maintenues à l'abri de l'oxygène dans un milieu neutre ou alcalin subissent une évolution caractérisée par l'apparition d'un système oxydoréducteur qui peut être mis en évidence par un titrage électrométrique au moyen d'un oxydant.

Inversement si l'on verse dans la solution ainsi oxydée un agent réducteur tel que le trichlorure de titane, on obtient une deuxième courbe en S dont le palier est au même niveau que celui de la courbe précédente, mais on constate que ce palier est moins étendu, c'est-à-dire que la quantité de substance oxydée, déterminée par le titrage en retour, est inférieure à la quantité de substance réduite déterminée par le titrage au moyen de l'oxydant. WURMSER et GÉLOSO avaient suggéré que cette différence entre les deux titrages était due à l'instabilité de la forme oxydée du système en équilibre. Par des procédés chimiques, nous avons cherché à mettre en évidence cette décomposition irréversible et surtout à établir qu'elle constitue un prolongement non obligatoire de l'action de l'oxydant.

Pour montrer que, dans l'action du ferricyanure de potassium, la molécule réductrice subit en partie une oxydation irréversible, et que celle-ci peut être évitée par l'emploi d'un agent oxydant moins brutal nous avons comparé les quantités de gaz carbonique produites au cours de l'oxydation par le ferricyanure de potassium et par le bleu de méthylène.

Technique. — L'établissement du potentiel s'accomplit, pour un même glucide, d'autant plus vite que le pH est plus grand et la température plus élevée. En outre, des solutions qui avaient atteint une valeur pour un certain pH et une certaine température, portées brusquement à une autre température, prenaient le potentiel caractéristique de cette température. Pour avoir une solution active, il suffit donc de la laisser évoluer un temps déterminé dans une solution alcaline, à chaud, et de l'amener ensuite à différents pH afin de l'étudier.

Les solutions qui ont servi au présent travail ont été préparées en chauffant à 100° un mélange de glucose 10 % dans NaOH N/10, la soude étant soigneusement décarbonatée.

Pour éviter l'oxydation, on opérait dans des appareils constitués par trois compartiments 1, 2, 3 (fig 6) disposés à des hauteurs différentes. Dans le compartiment 1 se trouvait le glucose 10 % dans NaOH N/10. Dans le comparti-

ment 2, directement relié au ballon, il y avait soit du bleu de méthylène pur, soit du ferricyanure de potassium pur à l'état de cristaux. Dans le troisième compartiment se trouvaient 25 centimètres cubes de SO_4H_2 étendu au cinquième.

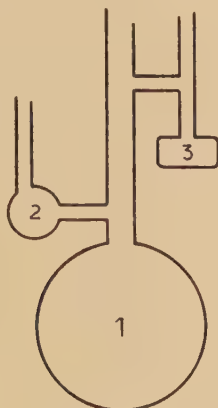


Fig. 6.

Les appareils remplis, on faisait le vide à la trompe, et on scellait. On portait le tout au bain-marie à 100° , et on l'y maintenait 30 minutes, temps qu'il importait de ne pas dépasser. Des expériences faites sur des témoins qui ne contenaient pas d'oxydant ont établi que la quantité de CO_2 produite pendant l'évolution dépendait du temps de chauffage, comme le montrent les chiffres suivants :

CO_2 produit au cours de l'évolution

Temps	CO_2 en centimètres cubes		
30 min.	8,7	8,7	9,3
60 —	10,5	11,9	
120 —	12	12,5	

A partir de la même solution de glucose, trois expériences étaient faites simultanément, de manière à rendre l'évolution rigoureusement comparable (chauffage simultané des trois appareils, puis refroidissement de même durée).

- I) 200 cc. glucose 10 % évolué ; 25 cc. SO_4H_2 1/5
- II) 200 cc. » » » ; » » ; 2 gr. B. M.
- III) 200 cc. » » » ; » » ; 1 ou 4 gr. B. M.

Après 30 minutes de chauffage à 100° , on laissait les appareils redroidir, et l'on effectuait ensuite le mélange avec l'oxydant. Ceci fait on mettait le tout dans une étuve à air, chauffée électriquement à 40° , à l'abri de la lumière.

La réduction de 2 grammes de bleu de méthylène s'effectuait en trois semaines ; la réduction de 1 gramme ne demandait que quelques jours. Cependant même dans ce dernier cas, l'extraction des gaz n'était faite qu'après trois semaines, afin que les conditions soient les mêmes pour toute la série, étant donnée la variation de la quantité de CO_2 montrée par le témoin I.

La réduction du bleu de méthylène étant accomplie, le mélange avec l'acide sulfurique était effectué, puis les gaz extraits à l'aide de la pompe à mercure de TÖPPLER, modifiée par CATHALA (1927).

Résultats expérimentaux. — A froid, malgré le vide poussé très loin, les extractions étaient extrêmement lentes (2 heures).

Un chauffage progressif a montré que l'extraction des gaz se faisait assez rapidement à 50° , la quantité de gaz étant la même que dans une extraction lente à froid.

La concentration en acide sulfurique de la solution après le mélange était assez faible (N) pour que le chauffage dans le vide ne détermine aucune décomposition.

Le tableau suivant indique les résultats obtenus :

*CO_2 en cc. produit pendant l'oxydation par le
bleu de méthylène de 200 centimètres cubes de glucose évolué 10 %
Temps d'oxydation 21 jours à 40°*

B. M.	CO_2				
0	14,5	16,2	14,2	10,3	15,2
1 gr.	19,8	19,9	19,8	19,1	20,2
2 gr.	28,4	25,5			31,6

Quantités de CO_2 en cc. rapportées à 1 gramme de B. M.

En présence de : 1 gr. B. M.	En présence de : 2 gr. B. M.
5,3	6,9
3,7	4,6
5,6	
8,8	
5	8,2
Moyenne : 5,6	Moyenne : 6,6

Dans une autre série d'expériences l'oxydant employé a été le ferricyanure de potassium en quantités équimoléculaires à 1 et 2 grammes de bleu de méthylène.

La réduction du ferricyanure durait trois semaines (comme pour le bleu de méthylène). L'extraction des gaz était faite dans les conditions déjà décrites.

Des traces de cyanure se formant pendant la réduction du ferricyanure, on a dû en évaluer l'importance pour éviter de les titrer comme CO_2 pendant l'absorption par la potasse. L'analyse de plusieurs solutions alcalines ayant servi à l'absorption n'a pu mettre en évidence le cyanure (comme CNAg). Les quantités de cyanure étaient donc suffisamment petites et ne pouvaient pas fausser les résultats. Tout le gaz absorbé était du CO_2 .

Le tableau suivant indique les résultats obtenus :

CO_2 en cc produit pendant l'oxydation de 200 cc. de G' (1) 10 %
par le ferricyanure de potassium
Temps d'oxydation 21 jours à 40°

$\text{Fe(CN)}_6\text{K}_3$	CO_2			
0	13,9	15,7	15,6	15,7
1,03	23,8	28,5	28,6	
2,06	33,4		42,5	43

Quantités de CO_2 en cc. rapportées à 1 gr. 03 $\text{Fe(CN)}_6\text{K}_3$

En présence de : 1,03 gr. $\text{Fe(CN)}_6\text{K}_3$	En présence de : 2,06 gr. $\text{Fe(CN)}_6\text{K}_3$
9,9	9,7
12,8	13,4
13	13,6
Moyenne : 11,9	Moyenne : 12,2

Dans d'autres expériences les quantités d'oxydant mises en jeu ont été doublées, l'oxydation ayant eu lieu en présence de 2 grammes et 4 grammes de B. M. et de quantités équivalentes de ferricyanure de potassium (2 gr. 06 et 4 gr. 12). La réduction durait alors trois mois à 40° , à l'abri de la lumière.

Les quantités de CO_2 obtenues pendant l'oxydation sont indiquées dans les tableaux suivants :

CO_2 en cc. produit pendant l'oxydation de 200 cc. de G' 10 %
par le bleu de méthylène. Temps d'oxydation trois mois à 40°

B. M.	CO_2			
0	19,6	18,8	15,6	19,4
2 gr.	32,2	31,4	33	31,9
4 gr.	46,5	46,6	43,6	50,1

(1) G' = Glucose évolué.

Quantités de CO₂ en cc. rapportées à 1 gr. B. M.

En présence de : 2 gr. B. M.	En présence de : 4 gr. B. M.
6,3	6,7
6,3	6,9
8,7	7
5,7	7,7
Moyenne : 6,7	Moyenne : 7,1

*CO₂ en cc. produit pendant l'oxydation de 200 cc. de G' 10 %
par le ferricyanure de potassium. Temps d'oxydation trois mois à 40°*

Fe(CN) ₆ K ₃	CO ₂			
0	19,2	17,3	18,9	20,4
2,06	51,6	51,4	46,2	59,3
4,12	72,7	77,8	68,4	85,4

Quantités de CO₂ en cc. rapportées à 1 gr. 03 Fe(CN)₆K₃.

En présence de : 2,06 gr. Fe(CN) ₆ K ₃	En présence de : 4,12 gr. Fe(CN) ₆ K ₃
16,2	13,4
17	15,1
13	12,7
19,4	16,2
Moyenne : 16,4	Moyenne : 14,3

Il résulte de ces chiffres que le rapport CO₂ dégagé/oxydant réduit correspond à 1/10^e de molécule de CO₂ pour 2 hydrogènes cédés dans le cas du bleu de méthylène et 4/10^e de molécule de CO₂ pour 2 hydrogènes cédés dans celui du ferricyanure de potassium. L'oxydation réversible de la forme réduite apparue au cours de l'évolution des solutions de glucides est donc prolongée par une phase irréversible caractérisée par une décarboxylation plus ou moins profonde, ou plus ou moins rapide, suivant la nature de l'oxydant employé. Ce phénomène irréversible rend difficile la mise en évidence par des titrages en retour de l'équilibre d'oxydo-réduction dont les solutions de glucides sont le siège ; cette difficulté se rencontre probablement dans le cas des corps organiques qui présentent un comportement analogue.

CHAPITRE V

ACTION DE L'OXYGÈNE SUR LE SYSTÈME OXYDORÉDUCTEUR

OXYDATION DES SOLUTIONS DE GLUCIDES ÉVOLUÉS

Ainsi qu'il a été indiqué dans l'Introduction, le système oxydo-réducteur qui se forme au cours de l'évolution des solutions de glucides présente, au point de vue de la physiologie cellulaire, un grand intérêt parce qu'il est constitué par des corps électroactifs, issus de substances jouant un rôle primordial dans le métabolisme. Il est logique d'admettre que ces systèmes qui, *in vitro*, se forment spontanément en milieu neutre dans les solutions de glucides, existent aussi dans les cellules.

Or, à côté des oxydoréductions proprement dites, des oxydations s'effectuent dans les organismes aux dépens de l'oxygène libre. Elles ont fait jusqu'en ces dernières années l'objet presque exclusif de l'attention des biochimistes.

On était ainsi conduit à se demander si les corps électroactifs des solutions de glucides ne jouissent pas d'une réactivité particulière vis-à-vis de l'oxygène moléculaire.

On sait que les glucides exception faite du fructose et de la dioxyacétone, ne sont pas autoxydables mais le deviennent en milieu alcalin. En étudiant les potentiels des solutions de glucose, WURMSER et GELOSO ont déjà signalé que la substance électroactive se combine avec l'oxygène. C'est dans ce sens que SCHOU et WURMSER (1928) ont désigné sous le nom de *forme active* du glucose le corps inconnu dont ils avaient déterminé le spectre d'absorption ultra violet, et qu'ils avaient suggéré être soit la forme aldéhydique du glucose, soit un diénol, soit encore un intermédiaire en C_3 . C'est également sous le nom de glucose actif que CLIFTON et ORT (1930) désignent le même produit de transformation du glucose, qu'ils supposent être constitué par une configuration particulière de la molécule de glucose rendant celle-ci ionisable.

Il a paru préférable dans la suite d'éviter le terme de glucose actif que les physiologistes ont déjà beaucoup employé en pensant plutôt à la forme γ du glucose, et de désigner simplement les solutions contenant le système oxydo-réducteur sous le nom de solutions de *glucides évolués* (WURMSER et GÉLOSO).

En fait, on ne connaît pas encore la nature chimique de ces corps électroactifs bien que les travaux récents de SZENT GYÖRGY (1928), KARRER (1933), v. EULER (1933) sur l'acide ascorbique et de v. EULER et ses collaborateurs sur ce que ces auteurs appellent la réductone aient apporté des renseignements sur la nature probable de cette classe de corps.

Technique. — Pour mesurer la fixation d'oxygène, on introduit la solution active préparée comme il a été indiqué, dans des récipients d'un volume défini reliés à des manomètres de BARCROFT-WARBURG, ayant comme liquide manométrique du liquide de BRODIE (taurocholate de Na : 5 grammes ; NaCl : 23 grammes dissous dans 500 cc. H₂O, plus quelques gouttes de solution concentrée de thymol alcoolique).

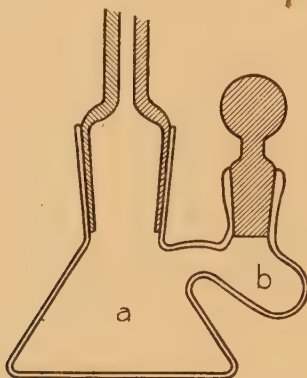


Fig. 7.

Les récipients employés avaient la forme représentée par la figure 7. Leur volume variait de 15 cc. à 18 cc. ; il était déterminé par jaugeage au mercure. Dans les ampoules latérales *b* de ces récipients se trouvait de la potasse à 30 %, afin d'opérer en atmosphère privée de gaz carbonique, et de pouvoir enregistrer les dénivellations dues seulement à la disparition de l'oxygène.

On applique la formule suivante (O. WARBURG) au calcul des quantités de gaz apparus ou disparus :

$$x = h \left(\frac{V_g \frac{273}{T} + V_l \alpha}{P} \right)$$

h est la dénivellation lue, *V_g* le volume gazeux au-dessus de la solution, *T* la température absolue à laquelle on travaille, *V_l* le volume du liquide employé, *α* le coefficient de solubilité de BUNSEN pour le gaz employé, et *P* la hauteur d'une colonne de liquide de BRODIE équivalente à 760 millimètres de mercure. Cette hauteur est d'environ 10.000 millimètres à la température ordinaire. L'expression entre parenthèses est constante pour un gaz, une température, un volume de liquide et un récipient donnés. On peut donc la considérer comme la *constante caractéristique* du récipient. La formule indiquée plus haut, ne convient au calcul qu'à la condition qu'un seul gaz apparaisse ou disparaisse.

Les récipients sont agités d'abord pendant 10 minutes à 40°, avec les robinets ouverts, afin d'obtenir l'équilibre de température et de pression. On ferme ensuite les robinets, et on continue l'agitation.

La fréquence des oscillations n'est pas indifférente, car la vitesse de dispa-

rition de l'oxygène peut être limitée par sa vitesse de pénétration au sein du liquide. Comme l'avait indiqué WARBURG, 120 oscillations par minute suffisent, la solution se trouvant pratiquement tout le temps en contact avec l'oxygène.

L'activité des ions hydrogène a été mesurée à l'aide de l'électrode de verre de KERRIDGE (1925), et par titrage électrométrique d'un indicateur. Les solutions étant fortement réductrices, l'électrode d'hydrogène ne peut pas servir aux déterminations.

Résultats expérimentaux. — a) *Fixation d'oxygène.* — Nous avons étudié la fixation d'oxygène par une solution à 3 % de glucose, préparée à partir d'une solution à 30 % de glucose évolué dans la soude N/10, dans le vide, à 100° (bain-marie bouillant) pendant 30 minutes, et diluée dix fois dans une solution tampon de phosphate M. Après dilution, le pH de la solution est le même que le pH du tampon, la solution de glucide introduite étant en petite quantité et mal tamponnée.

On introduit dans les récipients 2 cc. de cette solution et 0 cc. 2 de potasse à 30 % dans l'ampoule latérale.

Dans chaque expérience un récipient contenant 2 cc. H₂O + 0 cc. 2 potasse indique les modifications dues aux variations de pression atmosphérique et de température (thermobaromètre).

TABLEAU XII

Millimètres cubes d'oxygène fixés par heure à 40° en solution phosphates M à pH 6,9 par 2 cc. glucose M/6 évolué après t. heures

<i>t</i>	Oxygène 1/5 Atm.	Oxygène 1 Atm.	<i>t</i>	Oxygène 1/5 Atm.	Oxygène 1 Atm.
Exp. 1) 1	80	93	Exp. 3) 1	74	103
2	67	83	2	71	83
3	53	65	3	56	64
4	52	64	4	57	65
5	52	65	5	57	65
6	46	54	6	50	55
7	46	54	7	50	55
52	37	46	52	51	43
73	13	29	73	22	25
Exp. 2) 1	77	91	Exp. 4) 1	86	89
2	68	83	2	55	60
3	53	64	3	55	66
4	53	65	4	66	72
5	53	64	5	47	51
6	46	56	5	52	58
7	46	55	7	44	48
52	42	42	52	20	
			Exp. 5) 1	89	118
			2	66	99
			3	52	79
			4	55	75
			5	55	70
			6	45	62
			7	50	51

L'atmosphère surnageante était soit de l'air $p_{O_2} = 1/5$ atm. soit de l'oxygène provenant d'une bombe d'oxygène ($p_{O_2} = 1$ atm.).

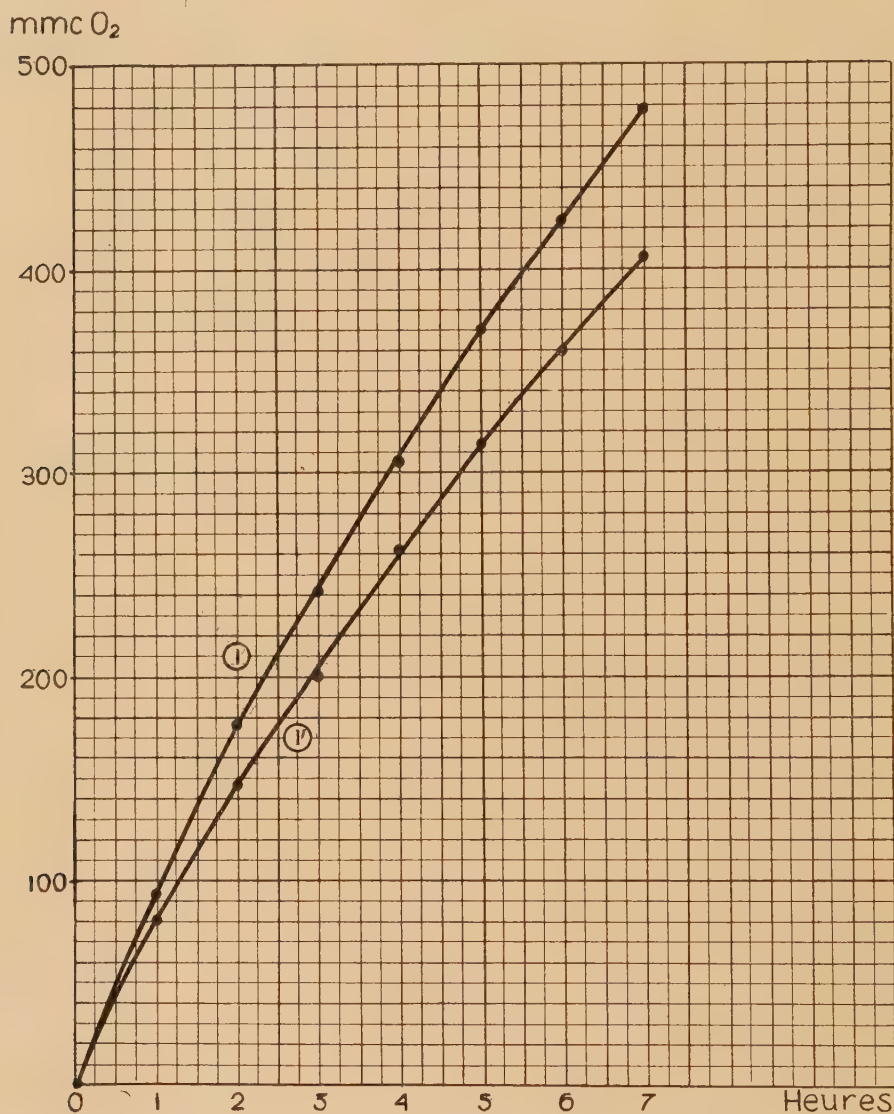


Fig. 8. — Oxygène fixé à pH 6,9, à 40° par 2 centimètres cubes glucose évolué M/6 1) oxygène 1 atm., 1') oxygène 1/5 atm.

Le tableau XII et la figure 8 mettent en évidence la diminution de la vitesse de fixation de l'oxygène avec le temps. La tension de l'oxygène influant peu sur la vitesse de fixation de ce gaz, il a été possible d'employer l'air comme source d'oxygène dans tout le travail qui suit.

b) *Influence de l'activité des ions hydrogène.* — Le pH d'une solution de glucose évolué préparée comme on l'a déjà indiqué aboutit à des valeurs comprises entre 6 et 7 ; de plus cette solution est mal tamponnée.

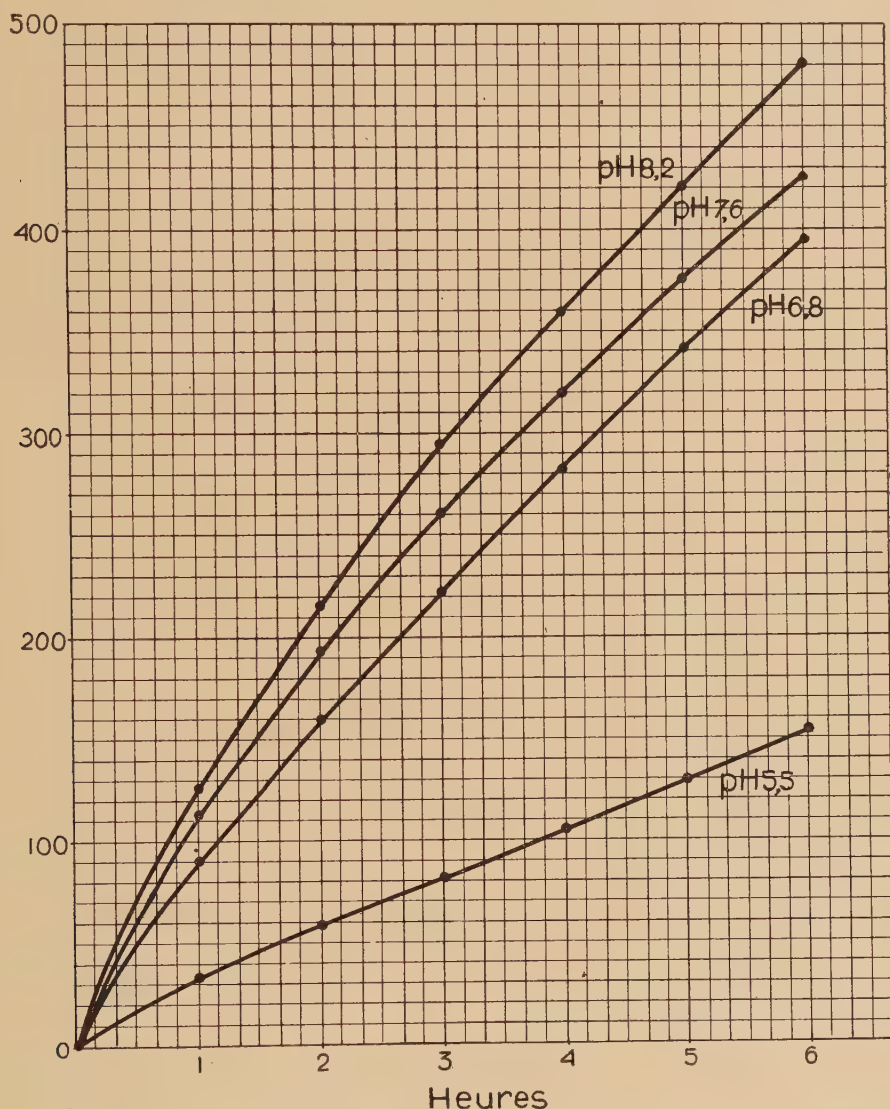


Fig. 9. — Oxygène fixé à différents pH à 40° par 2 centimètres cubes glucose M/6, évolué.

Afin d'étudier l'influence du pH, des solutions moléculaires de phosphates (donc fortement concentrées) ont été utilisées comme tampons. D'autre part, on a préparé une solution active de glucose 30 %, qu'on a dilué dix fois à l'aide de ces mêmes solutions.

TABLEAU XIII

*Millimètres cubes d'oxygène fixés par heure à 40° en solution phosphates M
par 2 cc. glucose, M/6 évolué, après t. heures*

<i>t</i>	pH : 5,2	6	6,9
Exp. 1) 1	22	50	76
2	19	35	69
3	19	35	60
4	20		55

<i>t</i>	pH : 5,2	6	6,9
Exp. 2) 1	16	48	76
2	11	48	57
3	11	41	58
4		45	59

<i>t</i>	pH : 6,9	7,3	7,8
Exp. 3) 1	79	92	120
2	64	78	106
3	54	67	74

<i>t</i>	pH : 6,9	7,3	7,8
Exp. 4) 1	65	108	118
2	68	87	104

<i>t</i>	pH : 6	6,9	7,8	8,9
Exp. 5) 1	57	82	98	140
2	48	72	102	103
3	42	65	72	83

<i>t</i>	pH : 5,5	6,8	7,6	8,2
Exp. 6) 1	32	90	115	127
2	25	70	78	89
3	23	62	68	78
4	24	60	58	64

<i>t</i>	pH : 5,5	6,8	7,6	8,2
Exp. 7) 1	22	67	84	98
2	18	61	76	82
3	21	66	66	68
4	22	56		64

Les solutions de phosphates employées étant fortement tamponnées imposent leur pH à la solution de glucide, ce qui permet, sous réserve d'utiliser la même solution mère pour une même série d'expériences, d'étudier la fixation d'oxygène à des pH différents.

Le tableau XIII et la figure 9 indiquent les résultats obtenus. Il en résulte que la vitesse de fixation de l'oxygène est augmentée par la diminution de l'activité des ~~concentration en~~ ions hydrogène.

Des expériences décrites plus haut, il résulte que le glucose fixe de l'oxygène moléculaire, à condition d'avoir subi une certaine évolution.

De même, le xylose, qui non évolué ne fixe pratiquement pas d'oxygène à pH 6,9, en fixe intensément s'il a été d'abord traité comme le glucose, ainsi que le montre le tableau XIV.

Après une légère augmentation, la vitesse de fixation diminue lentement avec le temps. La tension de l'oxygène a une influence plus grande que pour le glucose.

Le xylose devient donc autoxydable après avoir évolué spontanément. On peut admettre que ce cas est général, et que tous les glucides réducteurs donnent naissance lentement, dans des conditions voisines des conditions physiologiques et qui sont celles de la formation des corps électroactifs, à des substances autoxydables.

TABLEAU XIV

Millimètres cubes d'oxygène fixés par heure à 40°, en solution phosphates M à pH 6,9 par 2 cc. xylose M/6 évolué, après t heures

<i>t</i>	Oxygène 1/5 Atm.	Oxygène 1 Atm.
Exp. 1) 1	120	190
2	122	210
3	128	200
4	132	
5	130	156
6	130	130
7	115	130
Exp. 2) 1	135	220
2	137	230
3	160	180
4	143	180
5	130	149
6	120	130
7	116	130
Exp. 3) 1	135	197
2	137	200
3	160	170
4	143	176
5	130	146
6	120	147
7	116	120

c) Rapport du gaz carbonique produit à l'oxygène fixé. — L'analyse directe

des gaz apparus et disparus dans les expériences citées plus haut, montre qu'il se forme du gaz carbonique pendant que l'oxygène disparaît.

Les rapports, que l'on peut appeler « quotients respiratoires » ont été déterminés par l'analyse directe des gaz formés dans des expériences analogues à celles qu'on a relatées plus haut, mais dans lesquelles de plus grandes quantités de solution pouvaient réagir sur de plus grands volumes d'air.

L'appareillage employé dans ces expériences est celui qui a été décrit page 27.

Dans le ballon (1) dont le volume est d'environ 250 cc. on a mis 160 cc. de solution-tampon phosphates M à un pH donné.

Dans le compartiment (2) on a placé 40 cm³ d'une solution décarbonatée de soude N/10, qui contient 50 % de glucose.

Enfin le compartiment (3) contenait 25 cc. d'acide sulfurique dilué au cinquième. Après remplissage des trois compartiments, l'appareil était vidé d'air et scellé à la lampe. Etant ainsi préparé, il était laissé 30 minutes dans l'eau bouillante, temps nécessaire à l'évolution du glucide.

La solution refroidie, le contenu des compartiments 1 et 2 est mélangé, ce qui donne une solution de glucide actif, qui, exprimé en glucide initial, est de 10 % ; le pH en est connu. Après avoir fait le mélange, on laisse entrer l'air et on scelle de nouveau. Un témoin fait à partir des mêmes solutions et qui a subi identiquement les mêmes opérations, sauf la rentrée d'air, servira à connaître le CO₂ préformé.

Les deux appareils sont agités dans un thermostat entre 40° et 45° pendant 12 à 24 heures. Puis les gaz formés sont extraits, après qu'on a effectué le mélange avec l'acide sulfurique contenu dans le troisième compartiment.

Le tableau suivant donne le résultat de ces analyses. Le rapport CO₂/O₂ oscille autour de 0,3, c'est-à-dire qu'il apparaît en moyenne une molécule d'anhydride carbonique pour 3 molécules d'oxygène absorbé.

pH 6	{	CO ₂ préformé : 0,7 cc.	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,279$
		CO ₂ formé : 13,5 cc.	
		O ₂ fixé : 46,1 cc.	
pH 7	{	CO ₂ préformé : 2,5 cc.	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,254$
		CO ₂ formé : 10 cc.	
		O ₂ fixé : 29,5 cc.	
pH 7,9	{	CO ₂ préformé : 1,6 cc.	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,324$
		CO ₂ formé : 12,3 cc.	
		O ₂ fixé : 33 cc.	
pH 7,9	{	CO ₂ préformé : 1,2 cc.	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,304.$
		CO ₂ formé : 13 cc.	
		O ₂ fixé : 38,8 cc.	

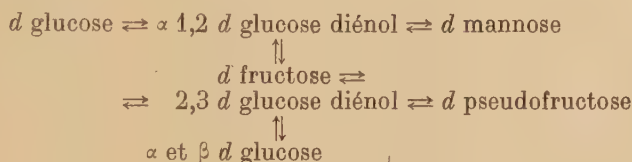
d) *Oxydation du fructose évolué.* — Nous avons déjà fait remarquer que la nature du corps capable de fixer l'oxygène est encore inconnue. D'après NEF, les transformations en milieu alcalin de la molécule de glucide normal, pourraient donner naissance à 116 corps ; il en a identifié 93.

Selon cet auteur, ces transformations débutent par une énolesation des glucides. Par exemple dans le cas d'un glucide aldéhydique l'énolesation se produira comme suit :



Ce diénol est en équilibre, non seulement avec le glucide dont il dérive, mais avec d'autres glucides, donnant ainsi naissance aux transformations de LOBRY DE BRUYN.

On aura la série de réactions :



Les réactions citées plus haut peuvent aboutir à une transformation du glucose diénol en fructose ; d'autre part, comme l'ont montré WARBURG et YABUSOE (1924), le fructose est autoxydable, alors que le glucose ne l'est pas. Il importait donc de savoir si le corps qui fixait l'oxygène dans les solutions de glucose évolué, n'était pas du fructose.

Pour élucider cette question, j'ai effectué les expériences suivantes :

Les quantités d'oxygène fixées par deux solutions faites à partir du même tampon, ont été comparées ; l'une contenait du glucose évolué M/6, l'autre du fructose non évolué M/6.

De même j'ai comparé les quantités d'oxygène fixées par deux solutions, dont l'une contenait du fructose évolué M/6, et l'autre du fructose non évolué M/6.

Les solutions de glucose évolué et de fructose évolué ont été préparées comme il a déjà été indiqué (évolution dans la soude N/10, pendant 30 minutes à 100° à l'abri de l'air, la concentration du glucide étant de 30 %).

Puis ces solutions étaient diluées dix fois dans la solution-tampon de phosphate M, de manière à obtenir une solution de glucide M/6.

Le fructose non évolué était dissous directement dans la solution tampon, à laquelle on ajoutait auparavant 1/10 H₂O, afin d'avoir la même concentration en phosphates que dans les solutions actives.

Ces expériences ont démontré, comme l'indique le tableau XV, que la vitesse de fixation de l'oxygène est plus grande pour le glucose évolué que pour le fructose non évolué à même concentration. L'oxygène est donc fixé par la forme évoluée du glucose et non par le fructose qui pourrait se former dans ces solutions pendant l'évolution, d'après le schéma de LOBRY DE BRUYN.

D'autre part, la vitesse de fixation de l'oxygène pour le fructose évolué est plus grande que pour le fructose non évolué, comme il ressort du tableau XVI et de la figure 10.

TABLEAU XV

Millimètres cubes d'oxygène fixés par heure à 40° en solution phosphates M. par 2 cc. glucide M/6, évolué après t heures

<i>t</i>	Glucose évolué	Fructose non évolué	pH
Exp. 1) 1	72	33	6,9
2	65	55	
3	65	66	
4	57	71	
Exp. 2) 1	84	38	»
2	68	51	
3	67	66	
4	62	69	
Exp. 3) 1	120	50	7,2
2	90	72	
3	77	98	
Exp. 4) 1	124	50	»
2	96	80	
3	80	102	

TABLEAU XVI

Millimètres cubes d'oxygène fixés par heure à 40°, en solution phosphates M. par 2 cc. fructose M/6 évolué, et non évolué après t heures

<i>t</i>	Fructose non évolué	Fructose évolué	pH
Exp. 1) 1	47	112	6,9
2	71	103	
3	91	105	
4	80	80	
Exp. 2) 1	39	108	»
2	67	98	
3	87	100	
4	76	78	
Exp. 3) 1	46	109	7,4
2	60	90	
3	68	83	
4	66	76	
Exp. 4) 1	46	114	»
2	60	104	
3	79	86	
4	66	76	

On peut conclure de ce qui précède, qu'un glucide susceptible d'autoxydation, a cette propriété accrue par évolution.

mmc O_2

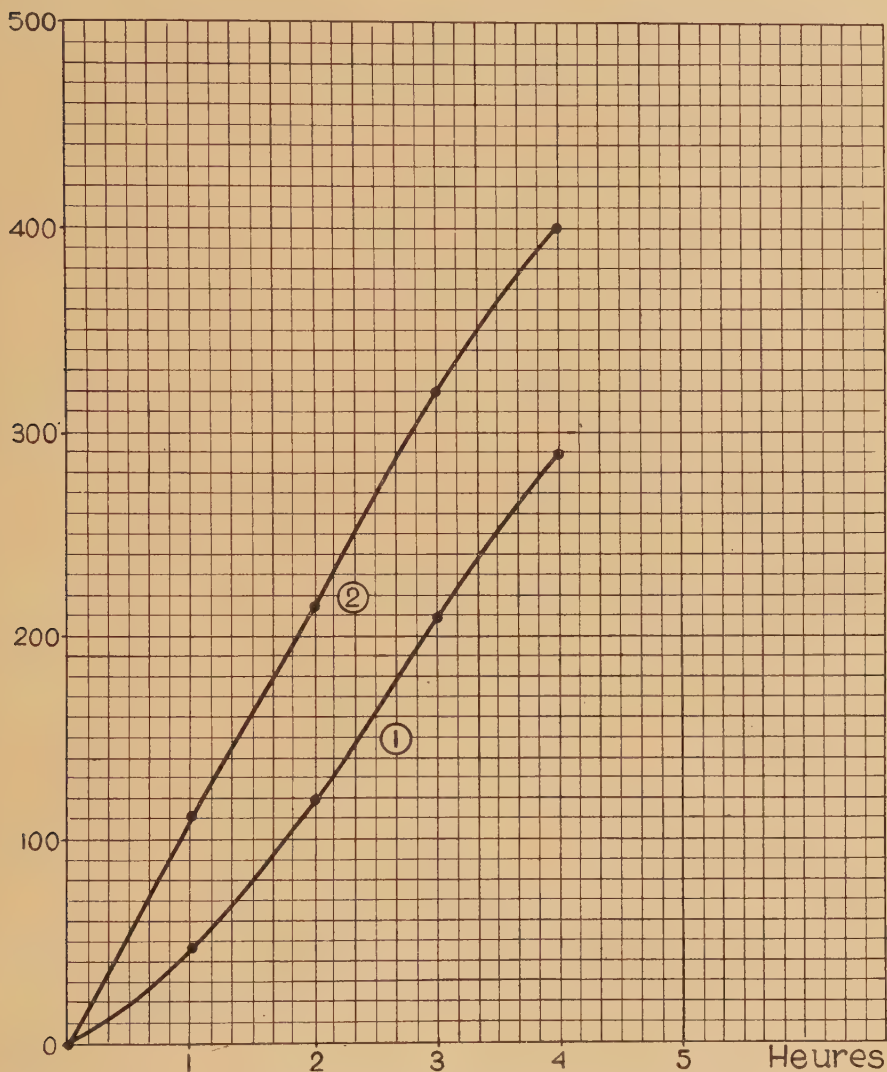


Fig. 10. — Oxygène fixé à pH 6,9 à 40° par 2 centimètres cubes fructose M/6
1) Fructose non évolué, 2) fructose évolué.

INFLUENCE DU CYANURE DE POTASSIUM ET DU PYROPHOSPHATE DE SODIUM

Les expériences précédentes montrent que tous les glucides réducteurs fixent de l'oxygène moléculaire quand ils ont subi l'évolution spontanée qui donne

naissance à la formation du système électroactif. Aucun catalyseur n'ayant été ajouté, il est logique d'admettre que ce système réagit lui-même, et que l'hydrogène électroactif peut se combiner à l'oxygène moléculaire *sans addition de catalyseur*. Cependant il se pourrait que des traces de métaux lourds existent dans les préparations.

D'après O. WARBURG, l'oxygène pour se combiner, doit toujours être activé par un phénomène de catalyse dû à des métaux lourds. Il en voit la preuve dans l'inhibition de cette combinaison par des substances qui forment des complexes avec les métaux lourds. On trouve parmi elles : le cyanure de potassium et le pyrophosphate de sodium.

D'après MEYERFOF et MATSUKA (1924) le cyanure de potassium empêche parfois même complètement la fixation de l'oxygène par le fructose, et ce d'autant mieux que le pH de la solution est plus élevé (8 ; 9 ; 10), tandis que le pyrophosphate de sodium empêche d'autant mieux que le pH est plus bas (8 ; 7).

Ces faits s'expliquent par la plus grande stabilité des complexes Fe-CNK en solution alcaline et par la plus grande stabilité des complexes Fe-pyrophosphate en solution acide.

J'ai étudié l'influence de ces deux sels. Le cyanure de potassium est dissous dans la même solution tampon que le glucide ; la solution s'alcalinise et on la ramène au pH initial (colorimétriquement) avec de l'acide phosphorique. Des quantités de solution de cyanure de potassium toujours fraîchement préparées, sont introduites dans les solutions de glucide à étudier, de manière à avoir des concentrations M/10, M/100, etc.

De même, le pyrophosphate de sodium a été étudié en solutions plus acides en prenant les mêmes précautions en ce qui concerne le pH .

TABLEAU XVII

Millimètres cubes d'oxygène fixés par heure à 40° en solution phosphates M par 2 cc. glucose M/6 évolué, après t. heures

t	CNK						pH
	0	M/250	M/100	M/50		M/10	
Exp. 1) 1	107			88	75	76	79
2	87			63	53	37	31
3	78			57	46	19	19
4	70			52	38	16	15
5	64			47	37	11	11
Exp. 2) 1	107	110	96	88	83	76	60
2	97	84	84	62	68	33	25
3	89	78	73	56	60	19	14
4	68	68	68	53	53	18	13
Exp. 3) 1	140	120	108	100		94	
2	103	80	65	52		44	
3	83	70	62	24		24	

a) Action du cyanure de potassium. — Dans les limites de pH (7, 8 ; 8, 9) qui permettent l'action du cyanure de potassium, j'ai constaté qu'il n'y avait d'action

mmc O₂

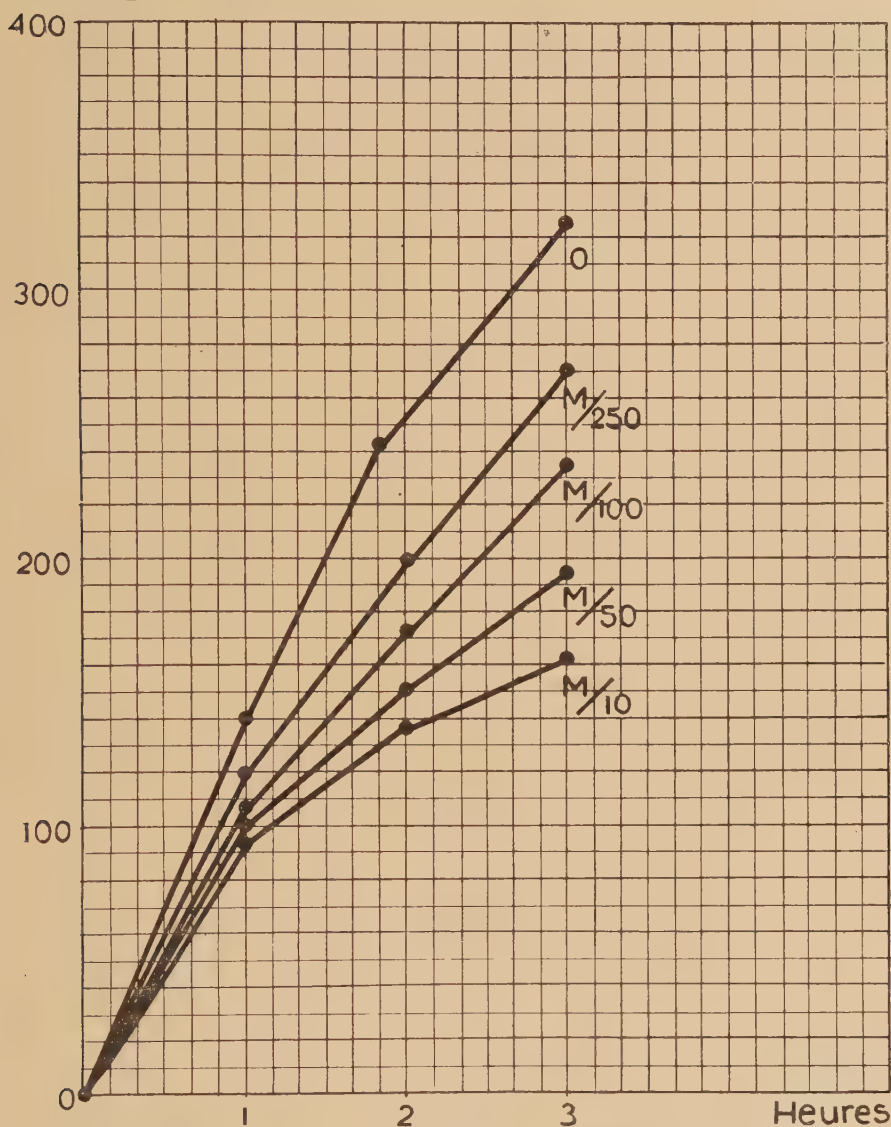


Fig. 11. — Oxygène fixé à 40° à pH. 8,9 en présence de quantités variables de cyanure de potassium par 2 centimètres cubes M/6 évolué.

nettement inhibitrice, que pour de fortes concentrations en cyanure (M/10), comme il ressort du tableau XVII et de la figure 11. De plus, même dans ces conditions, l'inhibition est relativement faible au début ; elle ne devient com-

plète qu'après quelques heures. Dans ce cas l'inhibition tardive peut s'expliquer par la combinaison du cyanure de potassium avec la forme active provenant du glucose, ce qui empêche cette forme active de réagir.

D'après MEYERHOF et MATSOUKA (1924) de très petites quantités de cyanure suffisent pour inhiber dans les mêmes conditions, presque complètement la fixation d'oxygène par le fructose normal. Si on compare cette action à l'action du cyanure de potassium sur les solutions de glucose évolué, on voit que dans ce dernier cas, le cyanure n'exerce pas d'action inhibitrice. Il ne s'agit donc pas de phénomène de catalyse par les métaux lourds dans ce cas. Il résulte qu'en solution légèrement alcaline, la mobilisation de l'hydrogène est suffisante pour que la fixation de l'oxygène se produise. L'oxygène n'a pas besoin d'être lui-même mobilisé pour réagir.

b) Influence du pyrophosphate de sodium. — L'action du pyrophosphate de sodium entre pH 6 et pH 8 rend probable l'hypothèse d'une catalyse dans

TABLEAU XVIII

Millimètres cubes d'oxygène fixés par heure à 40° en solution phosphates M. par 2 cc. glucose M/6 évolué, après t heures

<i>t</i>	$P_2O_7Na_4$					pH
	0	M/250	M/100	M/50	M/10	
Exp. 1)	1	50	18	14 24		6
	2	36	10	6 11		
	3	34	8	5 13		
	4	34	7	6 12		
	5	27	7	6 7		
	6	24	3	2 2		
Exp. 2)	1	66	12		10	6,9
	2	62	11		9	
	3	59	9		9	
	4	50	7		9	
	5	50	7		10	
Exp. 3)	1	83	31	21		"
	2	71	26	14		
	3	65	20	15		
	4	62	19	12		
Exp. 4)	1	81	49		15	7,3
	2	73	27		14	
	3	46	22		14	
	4	50	16		13	
Exp. 5)	1	118	64		30	7,7
	2	104	51		20	
	3	82	43		13	
	4	74	38		10	

la mobilisation de l'oxygène, comme il ressort du tableau XVIII et de la figure 12 qui mettent en évidence l'action inhibitrice de ce sel.

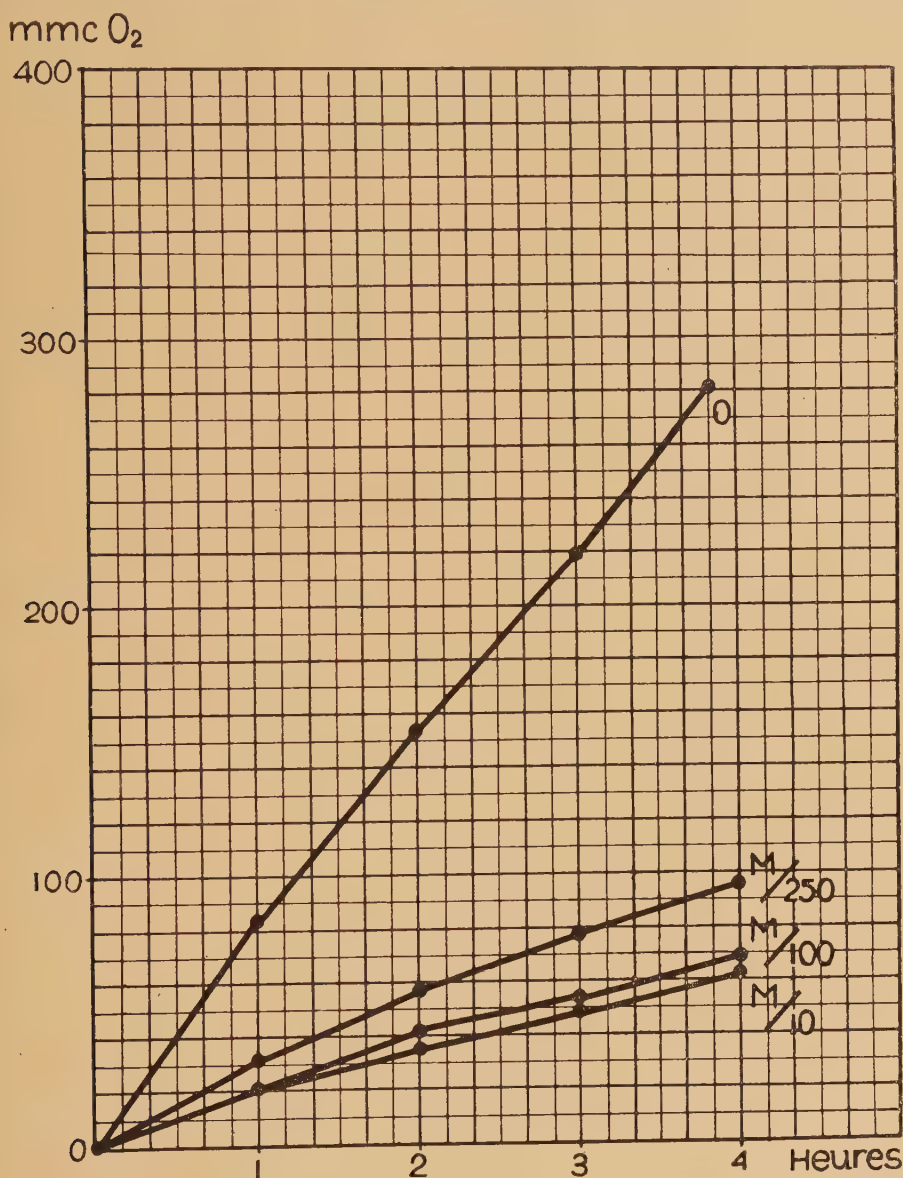


Fig. 12. — Oxygène fixé à pH 6,9 en présence de quantités variables de pyrophosphate de sodium, à 40°, par 2 centimètres cubes glucose M/6 évolué

En résumé l'interprétation de l'influence du cyanure de potassium et du pyrophosphate de sodium suggère l'existence de deux mécanismes, qui interviennent dans la fixation de l'oxygène.

L'hydrogène électroactif du système oxydoréducteur formé dans les solutions de glucides évolués est effectivement capable de se combiner directement à l'oxygène moléculaire ; mais à un pH bas, où la fixation d'oxygène est relativement lente en l'absence de catalyseurs, les métaux lourds interviennent pour mobiliser l'oxygène, d'où il résulte une accélération de la fixation.

A un pH plus élevé, la fixation de l'oxygène est assez rapide ; la mobilisation de l'hydrogène est suffisante pour rendre sinon inopérante, du moins insensible, l'action d'un catalyseur portant sur l'oxygène.

CONCLUSIONS

1° L'existence de systèmes en équilibre d'oxydoréduction parmi les dérivés des glucides n'était connue jusqu'ici que dans le cas des solutions de glucose et de fructose évolués à l'abri de l'oxygène. Le présent travail montre que tous les glucides réducteurs, maintenus en solution neutre ou alcaline, donnent naissance à des dérivés oxydoréducteurs analogues à ceux qui proviennent du glucose et du fructose.

2° Jusqu'à présent, il a été impossible de démontrer rigoureusement que ces systèmes oxydoréducteurs sont en équilibre réversible. La difficulté provient de ce que la forme oxydée des corps oxydoréducteurs formés, n'est pas stable. Au cours des titrages électrométriques, on observe que le palier de la courbe représentant le potentiel en fonction des quantités d'oxydant ajoutées à la solution, est plus étendu que le palier de la courbe obtenue par titrage en retour avec un réducteur. J'ai montré, par la mesure du gaz carbonique produit au cours de cette oxydation que cette différence est due à l'instabilité de la forme oxydée. L'oxydation réversible de la forme réduite apparue au cours de l'évolution des solutions de glucides est donc prolongée par une phase irréversible, caractérisée par une décarboxylation plus ou moins profonde ou plus ou moins rapide suivant la nature de l'oxydant employé.

3° J'ai apporté un nouvel argument en faveur de la réversibilité, en titrant électrométriquement une solution de glucide évolué, au moyen de deux oxydants très différents : du ferricyanure de potassium et du bleu de méthylène vis-à-vis desquels la forme oxydée est très inégalement instable. Les niveaux des potentiels correspondant aux paliers des courbes de titrage coïncident entre eux et caractérisent donc bien le système oxydoréducteur dérivé des glucides et non pas l'agent de titrage.

4° J'ai trouvé, d'autre part, un second argument en faveur de la réversibilité en étudiant le comportement des solutions de glucides en présence de borates. On sait qu'une solution pure de la forme réduite d'un système réversible doit avoir un potentiel $-\infty$, mais que ce cas n'est jamais réalisable ; pratiquement on mesure un potentiel qui dépend des impuretés et qui s'écarte plus ou moins, mais rarement beaucoup du potentiel normal : c'est le potentiel-limite. Quand on mesure le potentiel d'une électrode inerte plongée dans une solution de glucide évolué sans addition d'oxydant, on trouve une valeur remarquablement définie en fonction de la température et de l'activité des ions H^+ , valeur qui est déterminée par la relation de WURMSER et GELOSO. Cette relation s'applique non seulement au glucose et au fructose étudiés par ces auteurs mais aussi

à un grand nombre d'autres glucides. Or, cette valeur diminue en présence de borates. Si le potentiel mesuré dans ces conditions est bien assimilable au potentiel-limite d'un système réversible, on doit s'attendre à observer également une diminution du potentiel correspondant au palier des courbes de titrage au moyen d'un oxydant, en présence de borates.

C'est bien ce que j'ai obtenu. Ainsi deux arguments nouveaux sont apportés en faveur de la réversibilité des systèmes oxydoréducteurs formés dans les solutions de glucides.

5° L'étude de ces solutions n'a pas été entreprise dans le seul but d'élucider leurs propriétés physico-chimiques. L'attention avait été attirée par des travaux antérieurs sur l'analogie qui existe entre ces solutions et les milieux cellulaires ; en particulier une théorie récente admet qu'un des rôles essentiels de la respiration est de maintenir ces milieux à un niveau d'oxydoréduction constant.

Il était donc important d'étudier comment les solutions de glucides évolués se comportent vis-à-vis de l'oxygène. J'ai démontré que les solutions de glucides pratiquement inertes en présence d'oxygène deviennent autoxydables au cours de l'évolution qui les rend électroactives et qu'il n'est pas besoin de catalyseur pour donner une vitesse notable à l'oxydation de leurs dérivés par l'oxygène moléculaire. Les métaux lourds, auxquels les physiologistes à la suite de WARBURG attribuent un rôle essentiel dans l'oxydation des corps organiques par l'oxygène moléculaire, n'interviennent ici que secondairement ; leur action ne peut être mise en évidence qu'en milieu acidifié, c'est-à-dire tel que le système oxydoréducteur soit beaucoup moins autoxydable.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUBEL (E.), GENEVOIS (L.) et WURMSER (R.). — 1927, Sur le potentiel apparent des solutions de sucres réducteurs. *C. R. Ac. Sc.*, **184**, 407.
- BILMANN (E.). — 1921, Sur l'hydrogénation des quinhydrone. *Ann. Chim.*, **15**, 109.
- BILMANN (E.). — 1927, L'électrode à quinhydrone et ses applications. *Bull. Soc. Chim.*, **41**, 213.
- CATHALA (Jh.). — 1927, Thèse. Presses universitaires. Paris.
- CLARK (W. M.) et coll. — 1928, Studies on oxidation-réduction. *Hyg. Lab. Bull.*, n° **151**.
- CLIFTON (C. E.) et ORT (J. M.). — 1930, Active glucose. *Journal of phys. Chem.*, Vol. XXXIV, 855.
- EULER (H. v.). — 1933, Versuche über das Gluko-Reduktion. *Ark för Kem Min. Och Geog.*, **11 B.** n° 14.
- EULER (H. v.). — 1933, Zur Kenntnis des Vitamins C und verwandten Stoffe. *Ark. für Kem. Min. och Geog.*, **11 B.**, n° 9.
- HABER (F.) et RUSS (R.). — 1904, Ueber die elektrische Reduktion. *Zeit. f. phys. Chem.*, **47**, 255.
- HOPKINS (F. G.). — 1921, On an autoxidizable constituent of the cell. *Bioch. Journ.*, **19**, 787.
- KARRER (P.), SALOMON (H.), SCHOP (K.) et MORF (R.). — 1933, Zur kenntnis der Antiscorbutischen Vitamins (Vit. C.). *Vierteljahrshsch. der Nat. forsch. ges. in Zürich*. LXXXVIII.
- KERRIDGE (P. T.). — 1925, The use of the glass electrode in Biochemistry. *Bioch. Journ.* **19**, 611.
- LOBRY DE BRUYN (C. A.). — 1895, Action des alcalis dilués sur les hydrates de carbone. I. *Rec. des Tr. Chim. Pays-Bas*, **14**, 156.
- LOBRY DE BRUYN (C. A.) et ECKENSTEIN (W. A. van). — 1895, Action des alcalis dilués sur les hydrates de carbone, II. *Rec. des Tr. Chim. Pays-Bas.*, **14**, 203.
- LOBRY DE BRUYN (C. A.) et ECKENSTEIN (W. A. van). — 1896, Action des alcalis sur les sucres. III. *Rec. des Tr. Chim., Pays-Bas.* **15**, 92.
- LOBRY DE BRUYN (C. A.) et ECKENSTEIN (W. A. van). — 1897, Action des alcalis sur les sucres. IV. Remarques générales. *Rec. des Tr. Chim. Pays-Bas.* **16**, 257.
- LOBRY DE BRUYN (C. A.) et ECKENSTEIN (W. A. van). — 1897, Action des alcalis sur les sucres. V. *Rec. des Tr. Chim. des Pays-Bas*, **16**, 262.
- LOBRY DE BRUYN (C. A.) et ECKENSTEIN (W. A. van). — 1897, Action des alcalis sur les sucres. VI. *Rec. des Tr. Chim. Pays-Bas*, **16**, 274.
- MEYERHOF (O.) et MATSOUKA (K.). — 1924, Ueber den Mechanismus der Fruktose oxydation in Phosphatloesungen. *Biochem. Zeitsch.*, **150**, 1.
- MICHAELIS (L.). — 1933, Oxydations-Reduktions Potentiale. *Julius Springer*, Berlin.
- NEF (J. U.). — 1907, Dissoziationsvorgänge in der Zuckergruppe. I. Ueber das Verhalten der Zuckerrarten gegen Fehlingsche Lösung sowie gegen andere oxydations mittel. *Ann. der Chem.*, **35**, 7, 214.
- NEF (J. U.). — 1914, Dissoziationsvorgänge in der Zucker gruppe. *Ann. der Chem.*, **403**, 204.
- SCHOU (S. A.) et WURMSER (R.). — 1928, Sur une forme active probable du glucose. *C. R. Acad. Sc.*, **186**, 367.
- SZENT-GYORCYI (A. V.). — 1928, Observations of the function of peroxydase systems and the chemistry of the adrenal cortex. Description of a new carbohydrate derivative. *Bioch. Journ.*, **22**, 1387.

- WARBURG (O.). — Métabolisme des cellules et métabolisme des tumeurs. Traduits par E. AUBEL et L. GÉNEVOIS. Libraire Félix Alcan. Paris.
- WARBURG (O.) et YABUSOE (M.). — 1924, Über die Oxydation von Fruktose in phosphatlosungen. *Bioch. Zeitsch.*, **146**, 380.
- WURMSER (R.) et GÉLOSO (J.). — 1928, Sur le potentiel d'oxydation des glucides. *Journ. Chim. phys.*, **25**, 641.
- WURMSER (R.) et GÉLOSO (J.). — 1929, Sur le potentiel d'oxydation des solutions de glucides. *Journ. Chim. phys.*, **26**.
- WURMSER (R.) et GÉLOSO (J.). — 1929, Étude des solutions actives de glucose. *Journ. Chim. phys.*, **26**, 447.
- WURMSER (R.) et GÉLOSO (J.). — 1931, Sur le potentiel limite des solutions de glucides. *Journ. Chim. phys.*, **28**, 260.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I. — <i>Le potentiel-limite des solutions de glucides</i>	3
Le potentiel-limite des solutions de glucose et de fructose.....	3
Potentiel limite des autres glucides réducteurs.....	4
CHAPITRE II. — <i>Signification du potentiel caractéristique déterminé par titrage</i>	14
CHAPITRE III. — <i>Influence de l'acide borique</i>	20
Potentiel-limite des solutions de glucides en présence de borates.....	20
Titrage électrométrique en milieu boraté.....	23
CHAPITRE IV. — <i>Stabilité du système oxydo-réducteur</i>	26
CHAPITRE V. — <i>Action de l'oxygène sur le système oxydo-réducteur</i>	31
Oxydation des solutions de glucides évolués	31
Influence du cyanure de potassium et du pyrophosphate de sodium	41
CONCLUSIONS.....	47

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

DÉTERMINATION D'ÉNERGIE LIBRE
A PARTIR DU PRINCIPE DE NERNST

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 26 Juillet 1933.

Pour le Doyen de la Faculté des Sciences,

L'Assesseur,

J. PERRIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris.

Pour le Recteur,

l'Inspecteur de l'Académie

A. GODART.

IMPRIMERIE DES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE. Paris-Saint-Amand. — 8-12-1933.
